

DE L'ESSAI DES MÉDICAMENTS A ALCALOÏDES

par Chromatographie et Electrophorèse
sur papier.

THÈSE

pour l'obtention du titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(Pharmacie)

Présentée et soutenue le 8 juillet 1963

PAR

Renée ROUSSELET

PHARMACIEN

LAURÉAT DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

EX-INTERNE DES HOPITAUX DE PARIS

ASSISTANT AU LABORATOIRE NATIONAL DE LA SANTÉ PUBLIQUE

Jury.... } M. R. PARIS, *Président*
 } M. L. DOMANGE, *Professeur*
 } M. P. DELAVEAU, *Professeur*

PARIS
ÉDITIONS ANDRÉ LESOT
1963

DE L'ESSAI DES MÉDICAMENTS A ALCALOÏDES

par Chromatographie et Electrophorèse
sur papier.

THÈSE

pour l'obtention du titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(Pharmacie)

Présentée et soutenue le 8 juillet 1963

PAR

Renée ROUSSELET

PHARMACIEN

LAURÉAT DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

EX-INTERNE DES HOPITAUX DE PARIS

ASSISTANT AU LABORATOIRE NATIONAL DE LA SANTÉ PUBLIQUE

Jury }
M. R. PARIS, *Président*
M. L. DOMANGE, *Professeur*
M. P. DELAVEAU, *Professeur*

PARIS
ÉDITIONS ANDRÉ LESOT
1963



PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

MM.	G. VALETTE, O. ✱, C. 	Doyen.
	M.-M. JANOT, O. ✱, C. 	Assesseur.
	P. MALANGEAU, O. 	Assesseur.
	L. RODINEAU, ✱, O. 	Secrétaire Général.
	L. JEANDEL, O. 	Secrétaire Général Adjoint.
Mme	S. CERTAIN, O. 	Secrétaire.
	M.-L. ESPINASSE, O. 	Secrétaire.
M.	G. FROISSART, 	Secrétaire.

DOYEN HONORAIRE

M.	R. FABRE, C. ✱, C. 	Président de l'Académie de Médecine. Membre de l'Institut.
----	--	--

PROFESSEURS HONORAIRES

MM.	M. DELÉPINE, C. ✱, C. 	Membre de l'Institut.
	L. LAUNOY, O. ✱, O. 	
	P. FLEURY, O. ✱, O. 	
	M. MASCRE, O. ✱, C. 	
	M. PICON, O. ✱, O. 	
	C. BEDEL, ✱, O. 	
	R. FABRE, C. ✱, O. 	Président de l'Académie de Médecine. Membre de l'Institut.

PROFESSEURS

MM.	M.-M. JANOT, O. ✱, C. 	Pharmacie galénique (T.).
	G. VALETTE, O. ✱, C. 	Pharmacodynamique (T.).
	R. PARIS, ✱, O. 	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale (T.).
	M. GUILLOT, ✱, O. 	Physique (T.).
	J. GAUTIER,  O. ✱	Chimie organique (T.).
Mlle	S. LAMBIN,  O. ✱	Microbiologie (T.).
MM.	Y. RAOUL, ✱, O. 	Physiologie (T.).
	J. COURTOIS, ✱, O. 	Chimie biologique (T.).
	L. DOMANGE, ✱, O. 	Chimie minérale (T.).
	P. CRÉTÉ, ✱, O. 	Botanique (T.).
	R. TRUHAUT, O. ✱, O. 	Toxicologie et Hygiène industrielle (T.).
	A. MORETTE, ✱, O. 	Hydrologie (T.).
	R. CAVIER, O. 	Parasitologie (T.).
	A. QUEVAUVILLER, O. 	Hygiène et Education sanitaire (T.).
MM.	R. MOREAU, ✱, O. 	Pharmacie chimique (T.).
	J. GUY, O. 	Mathématiques appliquées aux sciences physiques et biologiques (T.P.).
	A. GERMAN, O. 	Virologie et Sérologie (T.P.).
	M. PIETTE, ✱, O. 	Biologie sanguine (T.P.).
	P. MALANGEAU, O. 	Chimie analytique (T.).
	M. GIRARD O. 	Chimie appliquée à l'expertise (T.).
	G. DILLEMANN	Législation, Déontologie et His- toire de la Pharmacie (T.).
	J. FLAHAUT, 	Minéralogie (T.P.).
	G. DEYSSON, O. 	Cytologie végétale (T.P.).
	C. BOUDENE	Toxicologie et Hygiène industrielle (T.P.).
	A. LE HIR	Pharmacie galénique (S.C.).
	J. RENAULT, 	Chimie organique (S.C.).
	P. DELAVEAU	Matière médicale (S.C.).

P. LARUELLE.....	Physique (S.C.).
A. MANGEOT.....	Pharmacie galénique industrielle (S.C.).
P. ROSSIGNOL.....	Pharmacodynamie (S.C.).

MAITRES DE CONFERENCE

MM. Y. COHEN,	Sciences naturelles.
G. LE MOAN	Toxicologie.
H. RENAULT, O. 	Pharmacie chimique.
C. PAOLETTI.....	Sciences appliquées.
P. REYNAUD	Sciences physico-chimiques.
J. POISSON	Sciences naturelles.
A. DESVIGNES, 	Microbiologie.
F. PERCHERON	Biochimie.
J. SAVEL	Sciences naturelles.
J. BORY	Sciences naturelles.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM. P. BINET	Parasitologie.
A. CAVE (FF).....	Pharmacie chimique et galénique.
P. CORRIEZ, O. 	Physique.
C. DREUX	Electrochimie appliquée à l'analyse.
P. GESTEAU,  O. 	Physique biologique.
J. GOUNELLE.....	Analyse appliquée au contrôle des médicaments (Section Biologie).
H. GUERIN,  O. 	Micrographie (3 ^e année), essais des drogues végétales.
MM. J. HARIPSE,  O. 	Chimie générale et pharmaceutique.
J. HENRY	Chimie (4 ^e année).
Mme J. HUBERT	Microbiologique.
MM. R. LELUC.....	Microbiologie.
M. LEMONNIER	Chimie analytique —2 ^e et 3 ^e années).
Mme S. LEMONTEY.....	Chimie (4 ^e année)
Mlle S. LONGUEVALLE, O. 	Service des examens de chimie.
Mlle H. MORIN, O. 	Pharmacodynamie et essais biologiques des médicaments.
MM. F. PELLERIN	Chimie analytique (2 ^e et 3 ^e années)
R. PERLES.....	Chimie biologique.
J. PESTIS (FF)	Biologie animale.
R. POUILLAIN	Hématologie.
Mme R. ROBERT.....	Sérologie.
Mlle A. ROLLEN,  O. 	Biologie végétale.
Mlle L. SEGUIN (FF), O. 	Analyse appliquée au contrôle des médicaments (Section Physico-Chimie).
Mme SEILLER (FF)	Pharmacie galénique industrielle.
M. J. YONGER (FF)	Chimie analytique (1 ^{re} année).

INSTITUT DE PHARMACOTECHNIE
ET DE PHARMACODYNAMIE

M. J. MANDEREAU.....	Chef de travaux pratiques de pharmacotechnie galénique.
----------------------	---

BIBLIOTHÈQUE

Mlle Y. RUYSSSEN,  O. 	Conservateur, chargé de la Direction.
Mlle S. LAVAUD, O. 	Conservateur.
Mme G. KREHMER, O. 	Conservateur.
Mme A. DESGRIPPES, O. 	Bibliothécaire.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR R. PARIS

*Professeur de Matière médicale
à la Faculté de Pharmacie de Paris,*

*Directeur de Recherches
au Laboratoire national de la Santé publique,
Chevalier de la Légion d'Honneur,*

qui a dirigé ce travail avec beaucoup de sollicitude et m'a fait
l'honneur de présider le Jury de cette Thèse.
Témoignage de ma très respectueuse reconnaissance.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A MONSIEUR LE PROFESSEUR L. DOMANGE

*Professeur de Chimie minérale
à la Faculté de Pharmacie de Paris,
Directeur au Laboratoire national
de la Santé publique
Chevalier de la Légion d'Honneur,*

qui m'a toujours témoigné beaucoup de bienveillance au cours de
ces recherches et a accepté de juger ce travail.
Témoignage de ma respectueuse gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR *P. DELAVEAU*

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris,

qui a bien voulu faire partie du Jury de cette Thèse.

Témoignage de ma sincère reconnaissance.

A mes Parents,

A toute ma famille,

avec ma grande affection.

PLAN DU TRAVAIL

	Pages
INTRODUCTION.	15
I. — PREMIÈRE PARTIE	
Les applications de la chromatographie sur papier à l'analyse des médicaments renfermant des alcaloïdes	
TRAVAUX ANTÉRIEURS	17
TRAVAUX PERSONNELS	20
CHAPITRE PREMIER. — PRÉPARATION DE LA LIQUEUR EXTRACTIVE.	
PRÉLÈVEMENT DE L'ÉCHANTILLON.	20
CALCUL DE LA PRISE D'ESSAI	21
EXTRACTION : a) Solutions aqueuses, Sirops	22
b) Poudres, Pilules, Dragées, Comprimés.	23
c) Suppositoires, Pommades	23
CRITIQUE DES MÉTHODES D'EXTRACTION	24
CHAPITRE II. — MARCHÉ DE LA CHROMATOGRAPHIE	25
1) GÉNÉRALITÉS :	
a) Appareils utilisés	25
b) Papiers.	25
c) Dépôt des gouttes.	26
d) Témoins	26
e) Mise en équilibre du papier.	29
f) Solvant développant	29
g) Développement du chromatogramme	30
h) Révélation	33
<i>Révélateurs généraux</i>	33
<i>Révélateurs spécifiques</i>	38
<i>Révélateurs particuliers de quelques alcaloïdes.</i> ..	40
i) Mesure du R_f . Interprétation des résultats. Calcul statistique	41
2) PRINCIPALES MÉTHODES UTILISÉES	47
II. — DEUXIÈME PARTIE	
Les applications de l'électrophorèse sur papier à l'analyse des médicaments renfermant des alcaloïdes.	
TRAVAUX ANTÉRIEURS	49
TRAVAUX PERSONNELS	50
1) PRÉPARATION DE LA LIQUEUR EXTRACTIVE	50
2) APPAREILLAGE ET UTILISATION. PAPIERS	50
3) DÉPLACEMENT DES SUBSTANCES	53
4) RÉVÉLATION	59
III. — TROISIÈME PARTIE	
Evaluation quantitative des taches	
I. MÉTHODES PAR ÉLUTION.	61
II. MÉTHODES SANS ÉLUTION :	
1) COMPARAISON VISUELLE	62
2) MESURES PHOTOÉLECTRIQUE DES TACHES.	63
IV. — QUATRIÈME PARTIE	
Analyse des médicaments renfermant des alcaloïdes	
TRAVAUX ANTÉRIEURS	67
TRAVAUX PERSONNELS	67
CHAPITRE PREMIER. — ANALYSE DE MÉDICAMENTS RENFERMANT DES ALCALOÏDES ET DES EXCIPIENTS OU DES SUBSTANCES NE DONNANT PAS SUR PAPIER LES RÉACTIONS DES ALCALOÏDES	
1) ALCALOÏDES ÉTUDIÉS :	
A) Alcaloïdes vrais ou naturels	68
B) Alcaloïdes modifiés	89

2) EXEMPLES PRATIQUES D'ANALYSES DE MÉDICAMENTS :	
A) Le médicament contient un seul alcaloïde.....	99
B) Le médicament contient plusieurs alcaloïdes :	
— à doses équivalentes	100
— à doses différentes	101
CHAPITRE II. — ANALYSE DE MÉDICAMENTS RENFERMANT DES ALCALOÏDES, DES EXCIPIENTS ET DES SUB- STANCES DONNANT SUR PAPIER CERTAINES RÉAC- TIONS DES ALCALOÏDES	104
A) COMPOSÉS AZOTÉS.	105
I. Dérivés aminés.	105
Amines de la série grasse.	105
Amines de la série aromatique	107
II. Amino alcools et dérivés	109
Anesthésiques locaux de synthèse.....	109
Choline et dérivés	113
III. Aminophénols et amino-alcool-phénols.....	114
IV. Amino-acides.	116
V. Amides.....	116
Série aromatique	116
Dérivés de l'uréthane	118
Dérivés de l'urée. Barbituriques.	118
Uréides de la série des hydantoïnes	119
Dérivés de la guanidine	119
VI. Sulfonamides.	119
VII. Imides	122
VIII. Hydrazines et hydrazides.	122
IX. Composés à noyau hétérocyclique azoté.....	123
Dérivés du furanne	123
Azoles	124
Azines	127
Oxazines	129
Quinoléine et dérivés	130
Dérivés de la phénothiazine	131
X. Antihistaminiques	141
XI. Antibiotiques	143
XII. Vitamines à molécule azotée.	150
XIII. Hormones et substances à action hormonale à molécule azotée.	151
B) COMPOSÉS NON AZOTÉS.	152
I. Polyalcools et dérivés	152
II. Dérivés aromatiques	155
III. Lactones terpéniques	155
IV. Composés à noyau hétérocyclique oxygéné...	156
V. Vitamines à molécule non azotée	157
VI. Hormones et substances à action hormonale à molécule non azotée.	157
CONCLUSIONS.	158
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	161
TABLE ALPHABÉTIQUE DES SUBSTANCES ÉTUDIÉES	165
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	169

INTRODUCTION

Les méthodes chromatographiques sont maintenant utilisées d'une façon courante dans les laboratoires, aussi bien dans la recherche que pour le contrôle des médicaments. La qualité et la rapidité des résultats obtenus ne sont pas étrangères au grand développement de ces méthodes et l'apport de la chromatographie sur papier, en particulier, est considérable eu égard à la modicité des moyens nécessaires. Les renseignements donnés par l'électrophorèse sur papier complètent d'une façon très utile ceux fournis par la chromatographie.

Jusqu'à l'emploi de ces méthodes modernes, l'identification de plusieurs alcaloïdes dans un mélange complexe était pénible et nécessitait la plupart du temps des quantités importantes de matière première. Ces techniques permettent d'effectuer des séparations de manière relativement simple avec des prises d'essai réduites.

Les travaux fondamentaux sur la chromatographie sur papier des alcaloïdes sont dus à MUNIER et MACHEBŒUF. Depuis une dizaine d'années, ils ont servi, avec ou sans modifications, généralement accompagnés de méthodes électrophorétiques, à approfondir l'analyse des végétaux.

Mais les procédés de recherche et d'identification des alcaloïdes contenus dans les médicaments sont assez différents de ceux qui sont pratiqués pour les plantes. Il y a peu de travaux d'ensemble sur ce sujet.

A cause de leur grande activité physiologique et de leur toxicité, les alcaloïdes sont généralement présents à doses faibles et fréquemment mélangés à des produits chimiques très variés, principes actifs ou excipients dont la nature n'est pas toujours spécifiée. La séparation est souvent difficile, il en est de même pour l'interprétation des résultats.

Ce travail a pour but d'étudier quelques-unes de ces difficultés et d'essayer de les résoudre. Il rentrait dans le cadre des contrôles habituels effectués au Laboratoire national de la Santé publique. Notre prédécesseur au laboratoire M. FOULON, l'avait entrepris dès 1954 et il avait mis au point quelques-unes des méthodes de base. Nous avons repris et développé ces recherches

sous la direction de notre Maître, M. le Professeur R. PARIS, dont la longue expérience scientifique, en particulier dans ce domaine, nous a été précieuse.

En effet, au Laboratoire de Matière médicale de la Faculté de Pharmacie de Paris, on s'occupe depuis de nombreuses années des applications de la chromatographie et de l'électrophorèse sur papier à l'analyse des médicaments d'origine végétale.

Citons notamment les thèses de VIÉJO [112], de FAUGERAS [23] et de DURAND [20] et les nombreuses publications ayant trait à des plantes à alcaloïdes telles que les Jusquiames, les Rauwolfias, l'Aconit Napel, à des drogues contenant des dérivés quinoniques (Droséras) ou anthracéniques (Bourdaine, aloès), aux flavonoïdes, aux dérivés coumariniques, aux constituants des Champignons, aux hétérosiques cardiotoniques.

Avant de commencer l'exposé de ce travail, je prie M. le Professeur R. PARIS d'accepter l'expression de ma très sincère gratitude. Ses précieux conseils et sa grande expérience scientifique m'ont permis de surmonter de nombreuses difficultés et de mener à bien ce travail. Sa sollicitude s'est manifestée bien au delà de ces recherches, puisqu'avant d'être mon Maître de Thèse, M. le Professeur PARIS était déjà mon Directeur scientifique au Laboratoire national de la Santé publique.

Je suis heureuse d'exprimer ma vive reconnaissance à M. le Professeur L. DOMANGE, Directeur au Laboratoire national de la Santé publique, qui a bien voulu m'accueillir dans ce laboratoire, m'a permis de réaliser ce travail et a accepté de le juger.

Je remercie M. le Professeur P. DELAVEAU qui s'est intéressé à ces recherches et a bien voulu faire partie du Jury de cette Thèse.

Je voudrais également exprimer mes remerciements à Mme H. MOYSE, Assistante de la Chaire de matière médicale, dont la grande expérience m'a été précieuse. Sa bienveillance et sa patience m'ont été d'un grand secours dans les moments difficiles.

Je témoigne ma respectueuse reconnaissance à Mlle L. SEGUIN et à Mlle A. PINGUET, Chefs de section au Laboratoire national de la Santé publique, qui m'ont initiée aux travaux de chimie analytique.

J'assure de ma sympathie amicale tous mes collègues du Laboratoire et les remercie des conseils qu'ils m'ont toujours donnés volontiers et qui m'ont été très précieux.

Dans le travail de tous les jours, Mlle M. LEMOINE m'a toujours apporté sa collaboration technique avec la plus grande gentillesse, je l'en remercie très amicalement.

PREMIÈRE PARTIE

Les Applications de la Chromatographie sur papier à l'analyse des Médicaments renfermant des Alcaloïdes

TRAVAUX ANTÉRIEURS

L'utilisation du papier comme support de chromatographie a été imaginée en 1944 par CONSDEN, GORDON et MARTIN [11] à l'occasion de recherches sur les amino-acides.

MUNIER et MACHEBŒUF, dès 1949, eurent l'idée d'appliquer cette méthode à l'identification des alcaloïdes. Leurs recherches ont permis, par une étude systématique des conditions opératoires, d'obtenir des taches petites, non étirées, étagées sur toute la longueur du chromatogramme.

Citons l'étude des révélateurs généraux d'alcaloïdes [65], et celle de l'acide de la phase solvante : rôle de sa concentration et de son coefficient de dissociation, rapport avec le coefficient de dissociation de la base organique [67, 69].

L'imprégnation des papiers à chromatographie au moyen de différentes solutions salines a conduit à l'utilisation de solvants neutres saturés d'eau, méthode qui s'était révélée difficile sur papiers non préparés (MUNIER, MACHEBŒUF, CHERRIER [70]).

Ces auteurs utilisèrent ensuite des phases solvantes acides sur papiers imprégnés de sel ayant le même anion [71].

Ces techniques ont permis de séparer quelques groupes d'alcaloïdes ou produits voisins tels que gènalcaloïdes (MUNIER [64]), dérivés nicotiniques [61].

Ces recherches furent également le sujet de la thèse MUNIER [60].

Des résumés de ces travaux se trouvent dans les ouvrages généraux de chromatographie en particulier ceux de LEDERER et LEDERER [51], de LOISELEUR [53], de BLOCK, DURRUM et ZWEIG [5] et de LEDERER [50].

A côté de ce travail considérable de base, il existe de nombreuses publications d'une portée moins générale. Nous citerons notamment les mises au point d'analyses dites d'orientation pour l'identification d'un alcaloïde pris dans une liste toujours limitée.

Ainsi THOMAS et ROLAND [107] se servirent en la modifiant un peu d'une des méthodes de MUNIER et étudièrent le comportement de 35 alcaloïdes ou produits voisins.

SCHULTZ et STRAUSS [101] ont utilisé une méthode dichotomique avec des solvants à base de butanol.

GOLDBAUM et KAZYAK [36] ont indiqué dans un tableau les Rf de 44 alcaloïdes ou substances similaires en faisant varier le pH d'un solvant à base de butanol et d'eau. Ces auteurs donnent de plus une méthode d'élution des taches qui permet, après extraction, de confirmer les résultats par d'autres méthodes physiques ou chimiques.

SCHMALL, WOLLISH et SHAFER [99] imprègnent un papier à chromatographie de solutions tampons à différents pH et utilisent le même solvant développant, le chloroforme en chromatographie descendante.

MACEK, HACAPERKOVA et KAVAC [54] ont identifié les alcaloïdes d'une liste de 66 à l'aide d'une méthode dichotomique. Les solvants sont à base de benzène, chloroforme, méthanol ou de butanol et sont additionnés d'un acide ou d'une base.

VALDI [110] se sert de solvants à base de cyclohexane, chloroforme, diéthylamine sur papier imprégné de formamide. Son étude concerne environ 70 alcaloïdes et une dizaine de produits de synthèse.

Signalons, de plus, le travail tout à fait particulier de RESPLANDY [96] qui utilise des solutions aqueuses d'électrolytes pour la séparation des alcaloïdes en chromatographie ascendante et cherche la relation entre les Rf et la constitution moléculaire. L'évaluation de la précision des mesures est faite au moyen du calcul statistique.

Ces méthodes d'identification sont seulement applicables à des solutions pures d'alcaloïdes. Lorsque ceux-ci se trouvent dans un médicament composé, la préparation de la liqueur extractive pose des problèmes parfois très difficiles à résoudre. Les résultats de la chromatographie sont d'autant meilleurs que la liqueur extractive est plus pure.

FISCHER et BÜRGIN [29] ont essayé de résoudre ce difficile problème. Ils ont fait précéder la chromatographie d'une extraction par les solvants non miscibles à l'eau à différents pH ; on obtient ainsi un premier fractionnement, chaque groupe est ensuite séparé par chromatographie sur papier et, dans certains cas, la substance éluee ou sublimée à partir du papier permet de déter-

miner quelques constantes physiques (point de fusion du produit pur ou de mélanges eutectiques) et d'effectuer des microréactions. A côté d'alcaloïdes, ils étudient quelques substances entrant dans la composition de médicaments comme l'antipyrine, l'oxyquinoléine.

REICHELT [94] caractérise les alcaloïdes dans une dizaine de formules médicamenteuses, solutés injectables ou comprimés. L'identification de l'alcaloïde se fait par une méthode dichotomique utilisant six solvants à base de chloroforme sur papier imprégné.

BÜCHI [6] rapporte la séparation par chromatographie de différents alcaloïdes et de préparations officinales de Solanacées : Ipéca, Noix vomique, Opium (études faites en particulier par SCHUMACHER [7]).

A ces méthodes peuvent se rattacher les travaux faits en toxicologie sur l'identification d'un alcaloïde dans une solution extractive provenant de viscères. Citons les travaux de REDON [93], ceux de CURRY et POWELL [14] sur le même sujet.

De très nombreux auteurs se sont attachés plus particulièrement à l'analyse de formules médicamenteuses bien déterminées, sans chercher spécialement à en généraliser les procédés : étude de la stabilité de solutés injectables d'alcaloïdes, de produits d'altération, ou de mélanges médicamenteux particulièrement difficiles à analyser.

D'autre part, il existe à l'époque actuelle de très nombreux produits de synthèse, parfois non azotés, qui se comportent comme des alcaloïdes lors de l'extraction et de la chromatographie. La présence de ces substances dans les médicaments, mélangées à des alcaloïdes, est très fréquente et vient compliquer le problème de leur séparation et de leur caractérisation. Elle a donc été étudiée de pair avec celle-ci. Il est parfois possible d'identifier le produit de synthèse par chromatographie ou électrophorèse. Certains de ces problèmes seront envisagés dans la seconde partie de ce travail et nous donnerons à cette occasion la bibliographie qui s'y rapporte.

En plus des travaux cités il en existe de très nombreux ayant trait à la séparation chromatographique des alcaloïdes d'une seule plante. Chaque méthode se limite donc à un groupe d'alcaloïdes et n'est utilisable dans l'analyse des médicaments que lorsque ceux-ci contiennent un seul extrait végétal. Elle est intéressante pour vérifier la présence des alcaloïdes secondaires à côté du ou des constituants principaux. La bibliographie en est très importante et se trouve dans les ouvrages généraux tels que celui de LEDERER [50].

TRAVAUX PERSONNELS

GÉNÉRALITÉS

MÉTHODES UTILISÉES

Nous ne rappellerons pas ici les théories de la chromatographie de partage sur papier. Elles sont exposées en détail dans des ouvrages généraux comme ceux de LEDERER [50] ou plus succinctement dans la plupart des traités de Chimie analytique.

Seront seulement examinées ici les étapes pratiques de la méthode et, pour chaque point seront indiquées nos observations personnelles.

Avant d'aborder les techniques de laboratoire une remarque s'impose. Ce travail a pour but de contrôler la qualité d'un médicament. Etant donné l'activité et la toxicité des alcaloïdes, s'il est important que le médicament ne contienne pas moins que la dose indiquée, il faut également qu'il n'en renferme pas plus. Chaque analyse chromatographique est donc accompagnée d'une évaluation de l'importance des taches, en particulier lorsqu'aucune autre méthode de dosage n'est applicable. L'extraction de la substance alcaloïdique à partir du médicament doit être totale ; le dépôt des solutions à analyser sur le chromatogramme est fait, cela va de soi, au moyen de pipettes graduées en microlitres.

CHAPITRE PREMIER

PRÉPARATION DE LA LIQUEUR EXTRACTIVE

PRÉLÈVEMENT DE L'ÉCHANTILLON

Lorsque la substance à analyser est une solution (soluté injectable, sirop...) l'échantillon étant homogène, le prélèvement sera conditionné seulement par le calcul de la prise d'essai nécessaire à l'analyse.

Dans les autres cas (cachets, comprimés, suppositoires) il n'est pas toujours suffisant comme on pourrait le croire, de prélever un échantillon moyen, mais on doit vérifier que la répartition est faite également dans chaque fraction du médicament.

Il est facile de le faire pour les cachets en pesant leur contenu.

Mais si le médicament contient un excipient (dragées, suppositoires) la pesée ne donne que peu de renseignements. De plus si les principes actifs ont été mal mélangés au cours de la fabrication, un cachet ou un suppositoire peuvent contenir la plus grande partie des principes actifs et parfois être toxiques alors que l'ensemble du prélèvement renferme exactement la dose voulue. Dans ce cas particulier le prélèvement d'un échantillon moyen donnera des renseignements insuffisants : l'analyse séparée de plusieurs fractions permettra seule de conclure. L'analyste a la possibilité de contrôler deux temps de la fabrication galénique : 1° la répartition équitable d'une division à l'autre ; 2° le temps antérieur du malaxage.

CALCUL DE LA PRISE D'ESSAI.

La prise d'essai dépend de la sensibilité du révélateur mais aussi de la concentration de l'alcaloïde dans le médicament. Prenons un exemple : le révélateur de DRAGENDORFF donne une tache assez nette avec la plupart des alcaloïdes pour 20 à 50 μ g. On pourrait n'extraire que cette quantité d'alcaloïde et mettre tout l'extrait sur le chromatogramme. Il est préférable chaque fois que cela est possible, c'est-à-dire lorsqu'on dispose d'une quantité de matière première suffisante, d'extraire 10 ou 20 mg d'alcaloïde et de peser l'extrait alcaloïdique, ce qui donnera une première indication sur la quantité d'alcaloïde contenue et sur la pureté du résidu. De plus, si on a extrait 10 à 20 mg de substance il sera possible de dissoudre ce résidu dans un volume exactement mesuré de 1 ou 2 ml d'alcool et de comparer les taches obtenues à celles données par des solutions titrées d'alcaloïdes témoins.

EXTRACTION.

Les méthodes d'extraction sont bien connues. Cependant nous devons insister ici sur des précautions qui ont une importance primordiale pour les essais chromatographiques. Il est en effet nécessaire ici d'éliminer totalement les impuretés qui, même en très faible quantité, gênent la formation d'une tache nette et sans étirement. Ce sont surtout les matières grasses, le saccharose et ses produits d'hydrolyse.

Le chloroforme est le solvant que nous utilisons le plus souvent pour l'extraction des bases alcaloïdiques. Il possède un certain nombre d'avantages sur l'éther : contrairement à ce dernier solvant, il ne dissout que très peu d'eau et n'entraîne donc ni sucres, ni glycérine. Plus lourd que l'eau il se trouve dans la partie inférieure des ampoules à décantation, ce qui facilite les manipulations. Il peut être utilisé facilement en extractions continues : perforateurs pour les extractions des solutions aqueuses, appareils de Soxhlet ou de Kumagawa pour les poudres. Sa tempéra-

ture d'ébullition n'étant pas trop élevée, la plupart des alcaloïdes ne sont pas décomposés au cours de ces extractions. De plus, il est non inflammable ce qui est important pour le travail de série.

Cependant il possède l'inconvénient de s'émulsionner facilement avec l'eau. On peut y remédier par une centrifugation de quelques minutes ou par une filtration sur coton hydrophile.

Si l'alcaloïde est peu soluble dans le chloroforme, il est possible d'employer un mélange éther-chloroforme. Il est alors impossible de faire une extraction continue, les températures d'ébullition des deux liquides n'étant pas les mêmes.

Dans tous les cas, il est bon de vérifier par un réactif d'alcaloïde que l'extraction est bien totale.

Dans le cas général où le chloroforme est employé, on sépare le solvant ayant servi aux premiers épuisements, puis on extrait à nouveau par 10 ou 15 ml de chloroforme neuf. Dans ce solvant on recherche la présence d'alcaloïdes. On peut le faire de deux façons différentes :

— Après évaporation du solvant, on dissout le résidu dans 0,5 ml environ d'acide chlorhydrique dilué ; cette solution est transvasée dans un petit tube à essais, puis on ajoute une goutte de réactif de DRAGENDORFF. On obtient encore un précipité très faible pour une solution à 1 pour 50 000. Si la réaction est faiblement positive l'extrait contient donc environ 10 μ g d'alcaloïde.

— Il est également possible de dissoudre le résidu dans une ou deux gouttes de chloroforme et de déposer cette solution sur un petit morceau de papier à chromatographie. On sèche la tache et on pulvérise un révélateur d'alcaloïdes (DRAGENDORFF). La coloration orangée est encore visible habituellement pour une tache contenant 1 ou 2 μ g, à condition que le diamètre de cette tache soit inférieur à 0,5 cm environ. (A quantités égales la sensibilité d'un révélateur dépend des dimensions de la tache). Cette méthode peut donc être rendue extrêmement sensible.

Nous l'utilisons aussi bien pour le contrôle des extractions que pour rechercher la présence d'un alcaloïde dans un extrait. Il est en effet inutile de faire une chromatographie, si on n'a pas d'abord vérifié que le révélateur donne une tache avec l'extrait à analyser.

Dans le cas où l'on utilise un liquide dissolvant de l'eau (éther) il est indispensable de sécher les solutions organiques sur sulfate de sodium anhydre avant l'évaporation.

a) Solutions aqueuses d'alcaloïdes - Sirops.

Si l'alcaloïde est dissous dans l'eau pure il suffit d'évaporer cette solution au bain-marie ou dans un courant d'air pour l'amener à une concentration convenable.

Mais si l'alcaloïde se trouve en solution avec des sucres, des sels minéraux ou de la glycérine, il faut l'extraire. La solution est généralement alcalinisée par l'ammoniaque. Si l'alcaloïde n'est ni fragile, ni volatil on peut faire une extraction continue à chaud. Dans le cas contraire, on extrait à plusieurs reprises dans une ampoule à décantation.

Les solutions chloroformiques sont réunies, séchées sur sulfate de sodium anhydre ou sur carbonate de potassium, distillées jusqu'à réduction à quelques millilitres. Après évaporation du solvant dans un courant d'air tiède, et séjour au dessiccateur, l'extraît chloroformique alcalin est pesé.

Lorsque la solution aqueuse est très visqueuse il est prudent de la diluer avant l'extraction. On évite ainsi la formation d'émulsions. De plus le chloroforme l'épuisera mieux.

b) *Poudres. Pilules. Dragées. Comprimés.*

Les comprimés dragéifiés sont débarrassés de leur enrobage par lavage à l'eau distillée. Les principes actifs se trouvent dans le noyau du comprimé dragéifié et il est généralement très facile de voir la limite entre les excipients et le noyau. On élimine ainsi presque tous les excipients et colorants qui pourraient perturber la caractérisation des alcaloïdes.

Après pulvérisation, on extrait à plusieurs reprises par l'acide chlorhydrique dilué (environ N). On vérifie que le pH des solutions d'extraction est bien acide. On centrifuge et filtre entre chaque extraction. On vérifie par le réactif de DRAGENDORFF que l'extraction est bien totale.

Les solutions chloroformiques sont réunies, neutralisées puis alacalinisées par l'ammoniaque et extraites comme précédemment par le chloroforme.

c) *Suppositoires et pommades.*

La méthode indiquée ici n'est valable que si l'excipient est une matière grasse ou tout au moins une substance insoluble dans l'eau, et soluble dans l'éther de pétrole. Nous étudierons plus loin les autres cas. La prise d'essai de suppositoire ou de pommade est divisée au mortier et traitée par l'éther de pétrole en quantité suffisante pour avoir une solution assez fluide (15 à 20 ml pour 3 g de beurre de Cacao). Après addition de 20 ml d'eau acidulée, on agite. Si une émulsion se produit on centrifuge quelques instants, puis on sépare la solution aqueuse et répète plusieurs fois cette opération. Les solutions chlorhydriques sont réunies. Il est important que toute trace de matière grasse soit éliminée à ce stade, sinon elle sera dissoute dans le chloroforme en même temps que la base alcaloïdique et gênera la chromatographie. Pour obtenir un dégraissage parfait il est donc prudent de laver une fois à l'éther

de pétrole les solutions chlorhydriques réunies. Puis on chauffe la solution aqueuse au bain-marie pour éliminer les traces de solvant. On alcalinise et termine l'extraction comme pour les comprimés.

CRITIQUES DES MÉTHODES D'EXTRACTION

Ces méthodes simples et rapides donnent de bons résultats, mais il existe un certain nombre de cas où on ne peut les utiliser.

— Si la base est volatile, il y aura toujours un déficit à l'extraction lors de l'évaporation du solvant. Il faut épuiser celui-ci par l'eau faiblement acide et ensuite concentrer cette solution dans des conditions telles que l'alcaloïde ne soit pas décomposé — on peut précipiter les alcaloïdes à l'état de dérivés comme les silicotungstates.

Il est possible de séparer également les alcaloïdes d'une solution médicamenteuse en les fixant sur résine échangeuse d'ions. Cette méthode est fréquemment employée et décrite par de nombreux auteurs en particulier par DOMANGE [18], THOMAS [106], THOMAS et ROLAND [108], RENAULT [95], CHABASSE-MASSONNEAU [9].

Cette méthode permet une élution sélective des différents composants et peut compléter les techniques décrites plus haut.

— Si le médicament à analyser contient des substances qui passent dans le chloroforme en même temps que l'alcaloïde on obtiendra un extrait chloroformique alcalin très impur qui ne pourra être utilisé directement pour la chromatographie, les impuretés seront d'autant plus gênantes qu'un certain nombre d'entre elles, se révèlent par les réactifs des alcaloïdes ; tel est le cas de l'antipyrine, de la vitamine B₁, du pyramidon et même de certains excipients comme les polyéthylènes glycols.

On pourra se débarrasser partiellement ou totalement de quelques-unes de ces substances par une première extraction en milieu acide par un solvant non miscible à l'eau et ne dissolvant pas le sel de l'alcaloïde.

Mais cette méthode de purification n'est pas toujours utilisable — quelques alcaloïdes sont extraits par le chloroforme en milieu acide, tel est le cas pour les bases xanthiques, la papavérine.

Pour la plupart des alcaloïdes, la solubilité en milieu acide dans le chloroforme n'est pas nulle, des traces d'alcaloïdes pourront être extraites. Si ce fait est souvent négligeable, il n'en n'est pas de même lorsqu'il s'agit d'un alcaloïde présent à doses très faibles. Nous reviendrons plus loin sur ce problème difficile.

CHAPITRE II

MARCHE DE LA CHROMATOGRAPHIE (1)

1) GÉNÉRALITÉS.

a) *Appareils utilisés.*

Il existe dans le commerce toutes sortes de cuves à chromatographie qui permettent de faire déplacer le solvant en descendant (chromatographie descendante), en montant (chromatographie ascendante, ou horizontalement (chromatographie circulaire).

La forme des cuves est différente suivant la méthode utilisée.

La chromatographie descendante se fait dans des cuves parallélépipédiques ou cylindriques. Le récipient contenant le solvant développant est un auget placé à la partie supérieure de la cuve au moyen d'un support situé à l'intérieur de celle-ci.

L'extrémité du chromatogramme est placée dans l'auget et maintenue à l'intérieur de celui-ci au moyen d'une baguette de verre.

Les cuves destinées à la chromatographie ascendante sont souvent des cylindres en verre de grandes dimensions. La fermeture doit être suffisamment hermétique pour permettre l'utilisation de solvants volatils. Nous nous servons couramment de bocaux de 50 cm de hauteur sur 20 cm de diamètre, rodés à la partie supérieure et fermés par une plaque de verre ou de glace, elle-même rodée. Le solvant développant est disposé au fond de la cuve dans une boîte de Pétri, la phase stationnaire qui sature l'enceinte étant dans le fond de la cuve.

La chromatographie circulaire peut se faire dans des boîtes de Pétri. Une languette de papier à chromatographie est découpée suivant un rayon du disque et sert de mèche pour la montée du solvant qui arrive au centre du chromatogramme. Il existe maintenant des appareils spéciaux dans lesquels le solvant monte par un tube capillaire.

b) *Papiers.*

Les dimensions et la forme des papiers dépendent de la méthode utilisée et de la taille des cuves.

Les cuves parallélépipédiques permettent l'utilisation de feuilles de grandes dimensions 28/46 cm (demi feuille de papier Whatman) et parfois plus.

(1) Nous nous sommes limitée à la chromatographie classique sur papier, la technique très récente de chromatographie sur plaque n'a pas été envisagée ici.

Dans les cuves cylindriques de 50×20 cm on se sert de papiers mesurant 36×28 cm et enroulés en cylindres.

Pour la chromatographie circulaire les papiers doivent être découpés en forme de disque aux dimensions de la cuve dont on dispose.

La qualité des résultats obtenus est fonction de la nature et de la régularité des papiers. Nous utilisons généralement le papier Whatman n° 1 ou 2. Le papier Arches 302 semble donner des résultats comparables.

Le papier peut être imprégné d'une solution saline, d'une solution tampon ou d'une substance hydrofuge. La feuille de papier est trempée dans la solution saline, puis séchée le plus rapidement possible. Si le séchage est vertical, il est bon de couper quelques centimètres en bas de la feuille avant l'emploi.

c) *Dépôt des gouttes.*

Ce dépôt est fait sur une ligne parallèle au bord inférieur de la feuille à 4 cm de celui-ci. Les taches sont espacées au moins de 2,5 cm les unes des autres. Pour éviter les modifications de R_f dues à des phénomènes de capillarité il est prudent de ne pas déposer de taches à moins de 4 cm des bords latéraux de la feuille.

Dans le cas général, on a affaire à un extrait chloroformique alcalin et par suite à la base de l'alcaloïde. Cet extrait est mis en solution dans un volume de solvant tel que l'alcaloïde s'y trouve à une concentration connue de 1 à 2%. Le mélange à parties égales d'alcool et de chloroforme est un bon solvant pour lequel les mesures avec les micropipettes sont faciles.

On trouve dans le commerce différentes sortes d'instruments. Les unes ont une contenance totale de 15 millimètres cubes et sont graduées par fractions de 5 microlitres. D'autres sont graduées par fractions de 2,5 et même 1 microlitre.

Il existe également des microburettes et microseringues d'un emploi moins général.

Si le volume à déposer dépasse 2 ou 3 microlitres il est bon de déposer la prise d'essai en plusieurs fractions pour que le diamètre de la tache n'excède pas 0,5 cm.

En chromatographie ascendante, après le dépôt des gouttes, les bords latéraux de la feuille sont agrafés au moyen d'épingles inoxydables de façon à former un cylindre. Il est bon de laisser un espace de quelques millimètres entre les deux bords pour éviter les phénomènes de capillarité pouvant perturber les migrations. Le chromatogramme est prêt à être introduit dans la cuve.

d) *Témoins.*

Sur chaque chromatogramme est déposée une goutte d'une solution témoin de l'alcaloïde à caractériser. C'est le *témoin externe*.

En effet, d'un chromatogramme à l'autre, il peut exister de très petites différences de conditions opératoires qui peuvent modifier d'une façon importante la migration de produits. Il est prudent de mettre également un *témoin interne*.

On dépose sur la ligne de départ et au même endroit, des prises d'essai du produit à analyser et de la solution témoin. S'il y a identité les deux taches d'alkaloïdes devront être superposées après le développement du chromatogramme. Nous verrons plus loin l'intérêt de ce procédé.



Fig. 1. — Chromatographie de sels d'éserine dans deux milieux différents.
 Chromatogramme n° 1 : Papier Whatman n° I. Solvant : N. Butanol, acide acétique, eau (4 - 1 - 5).
 Chromatogramme n° II : papier Whatman n° 1 imprégné de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$. Solvant : N. Butanol saturé d'eau ; D : Ligne de départ ; F : Front du solvant. 1. Acide salicylique : fluorescence bleue. 2. Salicylate d'éserine. 3. Eserine base. 4. Sulfate d'éserine.

On a le choix pour le témoin entre une solution aqueuse du sel de l'alkaloïde ou une solution organique de la base. Lors de l'extraction on obtient une base d'alkaloïde. Il est donc logique d'utiliser comme témoin une base, mais les sels ont l'avantage d'être plus stables et de se trouver dans le commerce à un état de pureté satisfaisant.

Toutefois, comme l'a signalé R. PARIS [75], on n'obtient les mêmes R_f pour la base et le sel que lorsque celui-ci est complètement dissocié dans les conditions de l'expérience. Sinon, le sel et la base qui peuvent avoir des R_f différents, se chromatographient séparément. Il se forme alors des taches dédoublées ou étirées.

Un exemple peut être donné au moyen du salicylate d'ésérine : comme l'indique la fig. 1, une solution de ce sel est déposée sur deux chromatogrammes différents. L'un est fait sur papier Whatman n° 1 non imprégné et développé au moyen du solvant de PARTRIDGE (N. butanol - acide acétique - eau : 4, 1, 5). Pour l'autre, on se sert du même papier imprégné de phosphate monopotassique et du butanol saturé d'eau pour le développement. Chacun d'entre eux reçoit les témoins suivants : ésérine base, acide salicylique, sulfate d'ésérine.

Après développement, on examine en lumière ultraviolette : les taches d'acide salicylique témoin se révèlent par leur belle fluorescence bleue. La même fluorescence se retrouve pour les taches de salicylate d'ésérine (taches dessinées en pointillé sur la figure). On pulvérise ensuite un révélateur général d'alcaloïde. Sur le chromatogramme n° 1, les trois taches d'ésérine apparaissent au même R_f (taches entourées d'un trait plein sur la figure). Le R_f de l'ésérine est différent de celui de l'acide salicylique, l'anion et le cation ont été complètement dissociés dans les molécules de salicylate et de sulfate d'ésérine.

Sur le chromatogramme n° II, le salicylate d'ésérine donne une tache très étirée dont une partie se trouve superposée à celle de l'acide salicylique.

Le salicylate n'a été que partiellement dissocié, une partie est chromatographiée sous forme d'ions, l'autre sous forme de molécules.

Par contre, le sulfate d'ésérine donne une tache alcaloïdique non étirée et de même R_f que l'ésérine base.

Dans la pratique, pour obtenir de bons résultats, il faut s'assurer que l'ionisation est suffisante, si les alcaloïdes sont déposés sous forme de sels. L'ionisation peut être complétée par le solvant développant lui-même dans le cas du butanol acétique. Par contre, sur les chromatogrammes imprégnés de solutions tampons et développés par des solvants neutres, il peut se produire des reculs d'ionisation.

Les conditions de meilleure chromatographie par le choix de l'anion de la phase solvante ont été étudiées par MUNIER et MACHEBEUF [67]. Elles sont liées au rapport du coefficient de dissociation de la base d'alcaloïde avec celui de l'acide de la phase solvante.

e) *Mise en équilibre du papier : humidification.*

(On réserve habituellement le terme d'imprégnation au trempage dans une solution saline ou dans un liquide organique comme le formamide).

Préconisée par beaucoup d'auteurs, même pour des papiers non imprégnés de solutions salines, elle permet d'obtenir des R_f plus constants.

Elle est indispensable lorsque le papier a été préalablement traité par une solution tampon ou une solution de sels. En effet, ces sels sont hygroscopiques et modifieraient la composition du solvant développant pendant sa migration. Pour remédier à cet inconvénient la feuille est placée pendant 24 heures dans l'enceinte saturée des vapeurs du solvant, après le dépôt des gouttes et avant le développement. Plusieurs dispositifs peuvent être utilisés, les meilleurs étant ceux qui n'obligent pas à ouvrir ultérieurement la cuve pour tremper la feuille dans le solvant. Par exemple, le couvercle de la cuve peut posséder en son centre un petit orifice fermé par un bouchon de liège qui laisse passer un tube en T au moyen duquel la feuille est suspendue; lorsque l'humidification est terminée on fait descendre le support pour que la feuille plonge dans le solvant.

f) *Solvant développant.*

Rappelons qu'en chromatographie de partage sur papier les substances sont séparées les unes des autres suivant leur coefficient de partage entre deux phases solvantes : la phase fixe ou stationnaire imprègne le papier et la phase mobile (solvant développant) le parcourt.

Le solvant est ici du butanol saturé d'eau additionné ou non d'un acide. Il est biphasique. La phase mobile est constituée par le liquide organique saturé d'eau, la partie fixe étant l'eau saturée du solvant organique. S'il y a un acide, il se répartit entre les deux phases. Quelques solvants monophasiques employés par divers auteurs pour des cas particuliers seront signalés au cours des monographies. Ils permettent de compléter les résultats obtenus par les méthodes générales.

Le degré de pureté des solvants est contrôlé en vérifiant leur température d'ébullition. S'il y a lieu, on élimine les fractions non utilisables.

La saturation est faite dans une ampoule à décantation, à la température des cuves à chromatographie. La séparation des deux phases du solvant (pour le butanol la phase mobile est la partie supérieure) doit être faite très minutieusement, en particulier si on utilise un solvant organique au voisinage de sa saturation par l'eau, ce qui est le cas ici.

Après séparation des deux phases, on s'assure que la phase organique reste limpide après agitation, la moindre trace de phase aqueuse restant sur les parois ou dans la douille de l'ampoule suffisent à donner un solvant trouble et le chromatogramme sera très difficile à interpréter. Les taches seront diffuses et mal délimitées ; en lumière ultraviolette on verra apparaître des zones de démixion. Par contre, si la quantité d'eau dans le solvant est un peu inférieure à celle qui correspond à la saturation, l'étagement des R_f sur le chromatogramme est un peu moins grand que lorsque le solvant est juste saturé. Mais il semble qu'il y ait beaucoup moins de risques d'erreurs d'interprétation avec un très léger excès de solvant organique que s'il y a trop d'eau (solvant trouble).

Après séparation des deux phases, la phase aqueuse est placée au fond de la cuve, la phase organique (environ 50 à 60 ml) est versée dans un cristalliseur ou une boîte de Pétri et placée ensuite dans la cuve. L'atmosphère de celle-ci sera donc saturée par les vapeurs des deux phases.

On utilise couramment des solvants contenant un alcool, un acide et de l'eau. Nous avons constaté en particulier avec des mélanges de butanol, d'acide formique et d'eau qu'un solvant dont on a décanté soigneusement la phase aqueuse 3 ou 4 heures après sa préparation, laisse séparer à nouveau une phase aqueuse 6 à 12 heures et même parfois plus après cette première séparation. Avec le butanol acétique, on ne se heurte pas à ces difficultés. Cependant, quelques auteurs tels que KENDALL et MARSHALL [45] ont étudié l'influence des phénomènes d'estérification dans les mélanges acide-alcool sur les valeurs des R_f .

g) Développement du chromatogramme.

— *Température* : la température doit être fixe pendant la durée de la chromatographie, en particulier lorsque le solvant développant est à la limite de la saturation par l'eau. En effet, s'il se produit une baisse de température importante, les solubilités eau-solvant organique seront moins grandes et il se produira une démixion au cours de la chromatographie.

De plus, la composition d'un solvant saturé d'eau n'est pas la même à 19° ou 25°. Les R_f des substances ne seront donc pas les mêmes. Il est important de posséder un local isotherme où on place les cuves et les solvants, on peut ainsi obtenir des R_f reproductibles d'une expérience à l'autre.

Toutes les mesures de R_f indiquées dans ce travail ont été faites à des températures comprises entre 20 et 22°, mais dont les variations pendant la durée d'une chromatographie étaient inférieures à 1°.

— *Durée* : la durée du développement des chromatogrammes dépend de la méthode et des solvants.

En méthode ascendante il ne semble pas intéressant de prolonger l'expérience trop longtemps. Par exemple, en 17 heures le butanol saturé d'eau se déplace de 25 à 27 cm sur papier Whatman n° 1, imprégné de phosphate acide de potassium. Au delà de ce temps, la migration est très lente et l'écart entre deux taches n'est pas augmenté de façon appréciable.

D'autres solvants moins visqueux et moins lourds vont plus vite. La même distance sera parcourue en 4 ou 5 heures seulement.

La chromatographie descendante peut être prolongée aussi longtemps que les substances n'ont pas atteint l'extrémité de la feuille. La méthode est dite continue lorsqu'on laisse le solvant s'égoutter en bas de la feuille. Les substances qui se déplacent lentement peuvent parvenir assez loin et on augmente ainsi l'écart entre deux taches de déplacements voisins.

La chromatographie circulaire est plus rapide mais ne fournit généralement pas de meilleurs résultats, les dimensions des chromatogrammes étant assez réduites.

La chromatographie peut encore être faite en deux dimensions : descendante ou ascendante suivant le matériel dont on dispose. La solution des substances à séparer est déposée à l'angle de la feuille. Un premier solvant développe le chromatogramme. Après séchage et sans révéler, on fait cheminer le deuxième solvant dans le sens perpendiculaire au premier. On utilise autant que possible deux solvants de natures très différentes, par exemple un solvant acide et l'autre alcalin. On peut aussi faire une chromatographie dans un sens et une électrophorèse dans l'autre. Deux substances qui ont même R_f dans le premier solvant peuvent être séparées dans le parcours en deuxième dimension.

L'inconvénient de cette méthode en deux dimensions est l'impossibilité d'utiliser des témoins sur la même feuille. Il est possible cependant de tourner cette difficulté de la façon suivante (fig. 2).

Sur la première ligne de départ on dépose le produit X à identifier et un témoin T près du bord de la feuille. On développe le chromatogramme, puis on découpe la bande de papier renfermant ce témoin qui est seule révélée de façon à repérer la position de T sur le chromatogramme principal.

On dépose à nouveau la substance témoin en T' sur la seconde ligne de départ et pratique le développement en deuxième dimension. On repère, après révélation de l'ensemble du chromatogramme, si dans les taches provenant de X, il s'en trouve une au niveau de T' en deuxième dimension et située dans le prolongement de T en première dimension. Elle est identique au témoin T (tache 5 du chromatogramme).

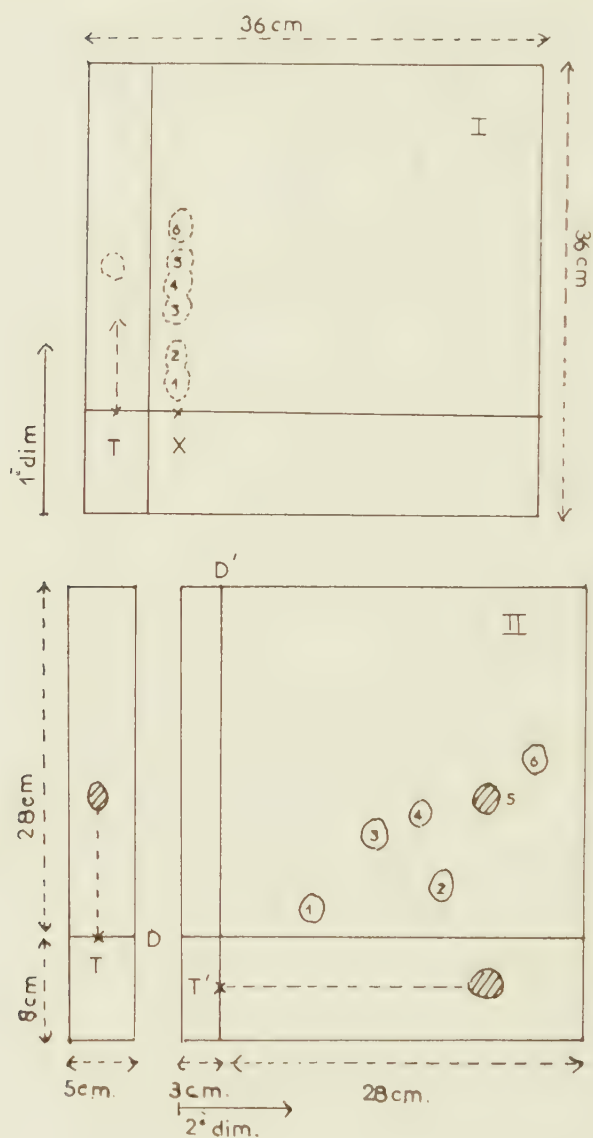


Fig. 2. — Chromatographie bidimensionnelle.

I. 1^{re} dimension (T seul révélé).II. 2^e dimension. T : Témoin en 1^{re} dimension. D : Ligne de départ en 1^{re} dimension. T' : Témoin en 2^e dimension. D' : Ligne de départ en 2^e dimension. X : Mélange à séparer. 1, 2, 3, 4, 5, 6 : Taches obtenues.

On peut utiliser cette technique aussi bien en chromatographie ascendante qu'en descendante. Le format des feuilles dépend du matériel dont on dispose.

Par exemple, pour des cuves cylindriques de 20 cm de diamètre sur 50 cm de hauteur les deux solvants sont utilisés en méthode ascendante, sur des feuilles carrées de 36 cm de côté. Les lignes de départ et l'emplacement des taches sont indiqués sur les deux schémas ci-dessus (fig. 2).

On peut également utiliser la méthode des témoins internes. Il faut alors deux chromatographies pour conclure. Sur un premier chromatogramme on dépose seulement le produit à analyser, sur le second on ajoute une petite quantité du témoin au produit à analyser. En comparant les deux chromatogrammes, on peut identifier la tache qui a été renforcée.

h) Révélation.

Elle fait apparaître les taches sur le chromatogramme dans le cas fréquent où la substance n'a pas de coloration propre. En dehors de la lumière ultraviolette on utilise des réactifs chimiques.

Les révélateurs en solution peuvent être appliqués par trempage ou par pulvérisation. La première méthode donne une répartition plus homogène mais risque de faire une sorte de lavage de la tache. Mais cependant on l'utilise toujours quand on veut faire ensuite une évaluation densitométrique des taches.

Pour l'identification des alcaloïdes, il existe deux catégories de révélateurs : les révélateurs généraux tels que les solutions d'iodobismuthate ou d'iodoplatinate de potassium et des révélateurs spécifiques de certains noyaux ou fonctions.

Révélateurs généraux :

L'étude des révélateurs généraux d'alcaloïdes employés en chromatographie a été faite par MUNIER et MACHEBŒUF dès 1949 [65].

Ce sont : la lumière ultraviolette, les révélateurs iodobismuthique (DRAGENDORFF) et iodoplatinique, les vapeurs d'iode, la solution iodo-iodurée, le réactif au thallium et à l'iode et le réactif phosphomolybdique.

Nous en avons retenu trois pour leur grande sensibilité et la facilité de leur utilisation.

Lumière ultraviolette : Chaque chromatogramme est examiné en lumière ultraviolette avant d'être traité par un réactif chimique. Les taches fluorescentes sont entourées au crayon au verso de la feuille.

En dehors de la quinine, dont la fluorescence est bien connue, surtout en milieu sulfurique, MUNIER [65] note que parmi 44 alcaloïdes étudiés par lui, 14 présentent une fluorescence importante

en particulier la papavérine, l'hydrastinine, la berbérine, la boldine, etc. Nous en avons remarqué d'autres, celles de l'hydrastine et de la réserpine notamment. Les colorations obtenues seront indiquées au cours des monographies.

La fluorescence d'un alcaloïde peut varier avec le pH du milieu. Une solution de réserpine base déposée sur un papier à chromatographie et examinée en lumière ultraviolette ne présente qu'une très faible fluorescence jaunâtre. Celle-ci devient bleu vert intense par pulvérisation d'une solution diluée d'acide acétique.

De même la quinine base est très peu fluorescente et le devient par pulvérisation d'acide sulfurique dilué.

Dans ces deux exemples, la fluorescence n'est pas due à l'anion puisque les taches d'acide acétique ou sulfurique ne sont pas visibles en lumière ultraviolette.

Il en est tout autrement pour les salicylates. Ainsi la fluorescence bleue du salicylate d'ésérine est due à l'anion, alors que la base d'ésérine n'est pas visible en lumière ultraviolette.

De plus, l'examen en lumière ultraviolette donne des renseignements très précieux. Le front du solvant est très visible ainsi que les fronts secondaires en cas d'émixion.

On peut voir également le degré de pureté de l'extrait alcaloïdique : il existe un très grand nombre de substances dont les taches sont, pour des doses faibles, peu visibles en lumière ordinaire et très visibles aux ultraviolets. Tel est le cas pour la chlorophylle, beaucoup de colorants synthétiques, les flavonoïdes, coumarines, les anthraquinones. Ces renseignements sont très précieux dans le cas où il s'est produit une modification du R_f : la coloration de la fluorescence et le R_f de la tache peuvent permettre parfois d'identifier la substance gênante qui n'a pu être éliminée par l'extraction et qui a modifié la position de la tache alcaloïdique sur le chromatogramme.

Révélateur de DRAGENDORFF.

Ce réactif a été mis au point par son auteur en 1866 [19] pour la caractérisation des alcaloïdes des végétaux à partir de solutions extractives acides, puis étendue par lui à la recherche en toxicologie.

Il semble que pour la révélation en chromatographie sur papier des alcaloïdes et d'autres substances azotées comme la choline, ce soient MUXIER et MACHEBERT [65] qui l'aient utilisé pour la première fois en le modifiant pour obtenir un meilleur contraste des taches avec le support.

Quelques auteurs, dont JAMINET en 1954 [40] ont signalé incidemment que des substances non azotées telles que les polyéthylèneglycols peuvent être révélées par le même réactif.

Personnellement, en 1961, avec PARIS [74], nous avons déjà insisté sur la non spécificité du réactif de DRAGENDORFF.

Tout récemment FARNSWORTH, PILEWSKI and DRAUS [22] ont montré qu'en chromatographie sur couche mince de nombreuses substances (dérivés de l' α -pyrone, chromones, chalcones, hétérosides cardiotoniques) donnaient des réactions « faussement positives » avec le révélateur de DRAGENDORFF-MUNIER. Il en est de même pour les lactones du kawa-kawa (*Piper methysticum*-Forst.) [31]. D'après ces auteurs les réactions positives de composés non azotés seraient dues à des groupements carbonyle conjugués avec des fonctions lactone.

Tous ces faits montrent que le mécanisme des colorations obtenues avec le réactif de DRAGENDORFF n'est pas connu.

Parmi les formules de réactifs iodobismuthiques proposées pour la révélation sur papier, nous en avons retenu quatre dans ce travail.

I. — Formule de MUNIER et MACHEBŒUF [66].

— Solution mère : mélanger les solutions A et B.

A. Sous nitrate de bismuth.	0,850 g
Eau distillée	40 ml
Acide acétique glacial	10 ml
B. Iodure de potassium	8 g
Eau distillée	20 ml

— Solution diluée pour l'emploi :

Solution mère.	10 ml
Acide acétique	20 ml
Eau distillée	100 ml

La solution mère se conserve plusieurs mois en flacons colorés. La solution diluée a été utilisée pendant plusieurs semaines sans être altérée.

II. — Formule de FRANÇOIS et Mlle SEGUIN [30].

Utilisée par FAUGERAS [23].

— Solution mère :

Carbonate de bismuth	5 g
Eau distillée	50 ml

délayer et ajouter :

Acide chlorhydrique concentré (densité 1,18)	10 ml
--	-------

Après dissolution, ajouter :

Iodure de potassium	25 g
-------------------------------	------

compléter à 100 ml avec de l'eau distillée et conserver en flacons colorés avec un peu de bismuth métallique.

Au moment de l'emploi, on dilue la solution mère à 1 pour 25 avec de l'acide chlorhydrique 0,1 N. La solution diluée n'est stable que pendant quelques minutes, mais donne un très bon contraste

entre la coloration de la tache et celle du fond, ce qui est particulièrement important dans le cas où on doit faire une mesure de l'intensité des taches par photométrie.

Avec ces deux révélateurs les taches d'alcaloïdes apparaissent en rouge orangé sur un fond plus ou moins jaune.

La coloration de la tache varie assez peu d'un alcaloïde à l'autre. Quelques alcaloïdes donnent des taches plus rouges (brucine, pilocarpine, nicotine, spartéine. Avec la morphine et la boldine les taches brunissent en quelques jours.

III. — Sur papier imprégné de phosphate acide de potassium, le fond est blanc mais les taches sont fugaces, elles disparaissent au bout de quelques instants. Une nouvelle pulvérisation du révélateur les fait apparaître à nouveau. MUNIER avait déjà signalé cet inconvénient et mis au point une formule de révélateur en remplaçant l'acide acétique par l'acide tartrique.

— Solution mère : mélanger les solutions A et B :

A. Sous nitrate de bismuth	17 g
Eau distillée	800 ml
Acide tartrique.	200 g

En agitant, ajouter à la solution B :

B. Iodure de potassium	160 g
Eau distillée	400 ml

— Solution diluée pour l'emploi :

Solution mère	50 ml
Acide tartrique	100 g
Eau distillée	500 ml

Sur papier phosphaté les taches ne s'effacent pas, mais le fond de la préparation est plus foncé que lorsqu'on utilise les deux formules précédentes.

Ces réactifs ont une sensibilité très grande, dont la limite est comparable pour la plupart des alcaloïdes sauf pour les bases xanthiques. Quelques alcaloïdes tels que l'éphédrine ne sont pas révélés dans les limites habituelles de concentration de la chromatographie. Comme l'ont montré KARIYONE et HASHIMOTO [43] la N-méthylation des bases organiques permet de renforcer notablement la réaction de ces substances.

La limite de sensibilité au révélateur dépend des dimensions de la tache. Celle-ci est encore visible après chromatographie sur papier si elle renferme 5 à 10 μ g d'alcaloïde et mesure 1,5 à 2 cm de diamètre.

Comme nous l'avons vu et comme nous le reverrons au cours de ce travail, le réactif de DRAGENDORFF n'est pas absolument spécifique des alcaloïdes. D'assez nombreuses substances précipitent ou réagissent avec lui sur papier.

Dans la pratique, il faut donc être prudent dans l'interprétation des résultats et vérifier, vis-à-vis du réactif, le comporte-

ment de chaque substance entrant dans la composition du médicament.

IV. — Par contre, les alcaloïdes xanthiques ne sont pas nettement révélés par les réactifs précédents dans les conditions décrites plus haut.

Pour ces bases, PARIS et FAUGERAS [86] utilisent un réactif de DRAGENDORFF plus concentré. La solution mère est diluée à 1/10 avec de l'acide chlorhydrique 0,1 N.

Utilisation : au cours de l'étude systématique des alcaloïdes et des produits perturbant la caractérisation de ceux-ci, les réactifs I et II (dilués au 1/25) ont été couramment employés. Ce sont eux qui sont désignés indistinctement sous le nom de réactif de DRAGENDORFF.

Pour les bases xanthiques, le réactif IV (dilué au 1/10) a été utilisé et désigné dans les tableaux comme réactif de DRAGENDORFF concentré.

Révélateur iodoplutinique.

Ce révélateur proposé en 1874 par SELMI [102] pour précipiter les alcaloïdes est également très utilisé pour leur révélation.

MUNIER et MACHEBŒUF [65] ont étudié une formule de ce révélateur :

Solution aqueuse de PtCl_4 à 10 %	1 ml
Solution aqueuse d'iodure de potassium à 4 %	25 ml
Eau distillée Q.S. pour 50 ml.	

Une formule peu différente a été proposée par GOLDBAUM et KAZYAK en 1956 [36].

Les spots sont révélés par trempage ou pulvérisation. Ils apparaissent avec des couleurs variant du violet noir au marron sur fond rose. On peut éclaircir le fond de la préparation par lavage à l'eau distillée.

Les auteurs ont observé que quelques alcaloïdes tels que la yohimbine, l'éphédrine, l'hydrastinine et l'hordénine ne sont pas révélés.

D'autres substances décomposent le révélateur. Il se forme des taches jaunâtres ou mêmes blanches sur fond rose (pénicilline). Cette décoloration est plus visible pour des essais directs à la touche que sur les taches obtenues après développement du chromatogramme.

La sensibilité est un peu inférieure à celle du révélateur de DRAGENDORFF. Mais le révélateur iodoplutinique peut être utilisé sur les papiers imprégnés de solutions salines (phosphates ou chlorures) sans que les taches soient fugaces.

Comme le révélateur de DRAGENDORFF il n'est pas absolument spécifique des alcaloïdes.

*Révélateurs spécifiques :**1° de composés phénoliques.**a) Solution de chlorure ferrique.*

Soluté officinal de chlorure ferrique	10 ml
Alcool à 95° Q.S. pour 100 ml.	

Ce révélateur peut être utilisé par trempage ou pulvérisation. Les taches apparaissent en brun verdâtre sur fond jaune, mais sa sensibilité n'est pas très grande en particulier pour la morphine.

b) Révélateur à la paranitraniline :

Solution A : Paranitraniline	0,15 g
Acide chlorhydrique concentré	4 ml
Eau distillée Q.S. pour 50 ml.	
Solution B : Nitrite de sodium	5 g
Eau distillée Q.S. pour 100 ml.	

On mélange extemporanément les solutions A et B dans les proportions

Solution A	25 ml
Solution B	1,5 ml

On pulvérise le chromatogramme puis on le sèche dans un courant d'air froid. On pulvérise ensuite la solution suivante :

Carbonate de sodium	10 g
Eau distillée Q.S.	100 ml

On sèche sans chauffer. Les taches apparaissent en brun sur fond beige. La sensibilité est très grande.

c) Révélateur au ferricyanure de potassium utilisé par BARTON, EVANS et GARDNER [3].

FeCl ₃ à 1 %	} à parties égales
FeCN ₆ K ₃ à 1 %	

mélange extemporané auquel on ajoute 1 goutte d'acide nitrique concentré par millilitre de solution.

*d) Certains auteurs ont également préconisé l'emploi d'acide sulfanilique ou d'ortho-dianisidine.**2° de composés aminés.*

Réactif à la ninhydrine : on utilise cette substance en solution dans l'acétone ou le butanol saturé d'eau à une concentration de 2 pour 1000.

Le révélateur est utilisé par pulvérisation ou trempage. Les taches apparaissent en quelques instants par chauffage à 80°, ou après 24 heures sans chauffage. Elles s'effacent progressivement en quelques jours. Il est possible de les fixer en les traitant par une solution de nitrate de cuivre et en exposant aux vapeurs d'ammoniaque.

Pour la plupart des acides aminés les taches sont violacées et deviennent roses par fixation.

Quelques alcaloïdes tels que l'éphédrine sont mal révélés par les réactifs classiques. La ninhydrine fait apparaître une tache violacée pour une quantité d'environ 25 μ g à 50 μ g après chromatographie.

3) de composés indoliques.

a) Réactif phosphovanillique.

Ce révélateur est utilisé par STAMBOULI [103] pour révéler les alcaloïdes indoliques (taches roses, bleu-violacé ou vertes).

La formule en est :

Vanilline	1 g
Acide phosphorique.	10 g
Ethanol 96° Q.S.	100 ml

Les chromatogrammes sont pulvérisés puis séchés quelques minutes à l'étuve à 100°.

b) *p*-diméthylaminobenzaldéhyde.

Ses solutions révèlent de très nombreux produits tels que les alcaloïdes indoliques, mais aussi les sulfamides, quelques anesthésiques locaux de synthèse, l'antipyrine, divers produits aminés tels que amino-phénols, *p*-phénylènediamine, *p*-toluylènediamine, etc.

La formule du révélateur et son mode d'utilisation dépendent de l'usage auquel il est destiné.

Pour les alcaloïdes de l'Ergot on utilise une solution chaude de *p*-diméthylaminobenzaldéhyde à 0,50% dans le cyclohexane, dans laquelle on trempe le chromatogramme. Après séchage le papier est placé en atmosphère d'acide chlorhydrique. Les taches apparaissent en bleu violacé.

On peut utiliser pour les mêmes alcaloïdes une solution de formule :

<i>p</i> -diméthylaminobenzaldéhyde	0,50 g
Acide chlorhydrique.	1 ml
Alcool absolu Q.S. pour.	100 ml

Après pulvérisation du révélateur le chromatogramme est chauffé pendant une à deux minutes à 100°. Les taches d'alcaloïdes indoliques apparaissent en rouge violacé.

Pour l'analyse des médicaments on utilise couramment une autre solution :

<i>p</i> -diméthylaminobenzaldéhyde	1 g
Acide chlorhydrique à 3 % Q.S. pour.	100 ml

Ce révélateur est utilisé par trempage ou pulvérisation, sans aucun chauffage. Les taches sont de différentes couleurs, jaune d'or pour quelques anesthésiques locaux de synthèse tels que la

procaïne, la butelline, la tétracaine, etc., et les sulfamides. L'anti-pyrine donne une tache de coloration rose apparaissant après quelques instants. Ce réactif est très sensible pour les sulfamides et les anesthésiques locaux de synthèse. Une tache de quelques microgrammes de ces substances est très nettement révélée.

Dans ces conditions les alcaloïdes indoliques ne donnent pas de taches.

4) de composés xanthiques.

Ils nécessitent l'emploi d'un réactif de DRAGENDORFF concentré (voir p. 37).

D'autre part le test de la murexide pourrait être réalisé sur papier d'après CHANDA et CHAKRABORTY [10] qui indiquent la technique suivante : on pulvérise sur le chromatogramme une solution à 10% de chloramine T, puis une solution normale d'acide chlorhydrique. On chauffe à la vapeur à 96-98° jusqu'à la disparition complète de l'odeur de chlore. Le papier est ensuite passé lentement au-dessus d'une bouteille d'ammoniaque concentrée et chauffé à nouveau à la vapeur pendant 5 ou 10 minutes jusqu'à apparition de taches roses. Il semble quelquefois nécessaire de recommencer le traitement par l'ammoniaque puis de chauffer. Les auteurs indiquent que la sensibilité du révélateur est augmentée si on examine les taches en lumière ultraviolette.

Révélateurs particuliers de quelques alcaloïdes.

— Brucine.

On utilise une solution de formule :

Acide nitrique $d^4 = 1,33$	60 ml
Eau distillée	40 ml
Nitrite de potassium	0,5 g

La pulvérisation du révélateur fait apparaître des taches jaune orangé pour la brucine. La réaction est négative avec la strychnine. Le papier devient fragile.

— Nicotine.

Réaction de KÖNIG utilisée en chromatographie sur papier par LEISERSON et WALKER [48]. On pulvérise sur le chromatogramme une solution de formule :

Acide <i>p</i> -aminobenzoïque	1 g
Alcool à 95° Q.S. pour	100 ml

puis on place dans un récipient contenant des vapeurs de bromure de cyanogène.

Les alcaloïdes des Tabacs apparaissent en jaune rouge, avec un maximum après 10 ou 15 minutes, puis disparaissent en une heure ou deux.

i) *Mesure du R_f : interprétation des résultats.*

Le R_f , abréviation des mots anglais « Rowing-Flow » ou « Rate of Flow », indique la position de la tache sur le chromatogramme. C'est le rapport :

$$\frac{\text{distance parcourue par le produit}}{\text{distance parcourue par le solvant}}$$

La mesure du R_f peut se faire à partir du centre de la tache ou à partir de ses extrémités. On donne parfois le R_f des deux extrémités, en particulier si on désire montrer que la tache est étirée.

En chromatographie descendante continue le solvant dépasse le bord de la feuille. Il est alors impossible de déterminer un R_f . On mesure le déplacement par rapport à une substance de référence, la morphine par exemple dans le cas des alcaloïdes.

Les $R_f \times 100$ indiqués plus loin ont été mesurés à partir du centre de la tache. Ces déterminations ont été faites pour des solutions pures d'alcaloïdes à la concentration habituelle de 1 ou 2% lorsque la solubilité le permet.

Il a été constaté que, d'une chromatographie à l'autre, on pouvait obtenir des variations non négligeables du R_f , même si les conditions opératoires semblaient identiques. Ce phénomène a été signalé par MUNIER [63]. En réalité, il est vraisemblable que ces variations dépendent d'un certain nombre de facteurs dont chacun ne provoque que des différences de très faible amplitude, mais qu'on ne peut éliminer dans les conditions habituelles, par exemple : la composition du papier (nature et longueur des fibres), traces de matières minérales, etc., les solvants (degré de pureté), légères erreurs dans la mesure des volumes des solvants, très faibles différences de température (moins d'un degré) modifiant le degré de saturation des solvants, de l'atmosphère de la cuve, la solubilité des alcaloïdes, la vitesse de déplacement du solvant, etc.

On peut assimiler l'influence de ces différents facteurs à celle du hasard et interpréter les résultats au moyen du calcul statistique.

Nous en rappellerons seulement quelques termes usuels ainsi que leurs définitions.

Soient :

- $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$ les valeurs de $R_f \times 100$
- N le nombre de déterminations,
- La moyenne arithmétique est :

$$\frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{N} = \bar{x}$$

— L'écart entre chaque détermination et la moyenne arithmétique est :

$$e_1 = x_1 - \bar{x}$$

$$e_n = x_n - \bar{x}$$

— La variance se calcule par l'équation :

$$S^2 = \frac{(e_1)^2 + \dots + (e_n)^2}{N - 1}$$

— L'écart type est $S = \sqrt{S^2}$

— L'écart type de la moyenne est :

$$S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{N}}$$

Ainsi, 11 déterminations du $R_f \times 100$ de la codéine ont été faites par la méthode utilisant le butanol saturé d'eau et un papier imprégné d'une solution de phosphate monopotassique. Les chiffres suivants ont été trouvés pour $R_f \times 100$:

26, 27, 23, 25, 22, 23, 24, 22, 26, 24, 24.

La moyenne arithmétique est : 24,18.

La variance est :

$$S^2 = \frac{1,82^2 + 2,82^2 + 1,18^2 + \dots + 0,18^2}{10} = 2,77$$

L'écart type est : $\sqrt{2,77} = 1,66$

Mathématiquement, il a été démontré que si on faisait un grand nombre de déterminations :

— 68,3% des résultats seraient compris entre :

$$\bar{x} + S \quad \bar{x} - S$$

$$24,18 + 1,66 = 25,84 \quad \text{et} \quad 24,18 - 1,66 = 22,52$$

— 95,4% des résultats seraient compris entre :

$$\bar{x} + 2S \quad \bar{x} - 2S$$

$$24,18 + 2 \times 1,66 = 27,50 \quad \text{et} \quad 24,18 - 2 \times 1,66 = 20,86$$

— 99,7% des résultats seraient compris entre :

$$\bar{x} + 3S \quad \bar{x} - 3S$$

$$24,18 + 3 \times 1,66 = 29,16 \quad \text{et} \quad 24,18 - 3 \times 1,66 = 19,20$$

ces derniers chiffres correspondant à la presque totalité des résultats.

Il est possible également de connaître la précision du calcul de la moyenne. Elle est représentée par l'écart type de la moyenne :

$$S_m = \frac{S}{\sqrt{N}} = \frac{1,66}{\sqrt{11}} = 0,5$$

ce qui veut dire que si on faisait d'autres déterminations de la moyenne par groupes de 11 nouvelles mesures, on aurait vraisemblablement comme plus haut :

— 68,3% de résultats compris entre :

$$24,18 + 0,5 = 24,68 \quad \text{et} \quad 24,18 - 0,5 = 23,68$$

— 95,5% de résultats compris entre :

$$24,18 + 2 \times 0,5 = 25,18 \quad \text{et} \quad 24,18 - 2 \times 0,5 = 23,18$$

— 99,7% de résultats compris entre :

$$24,18 + 3 \times 0,5 = 25,68 \quad \text{et} \quad 24,18 - 3 \times 0,5 = 22,68.$$

D'après la formule :

$$S_m = \frac{S}{\sqrt{N}}$$

on voit que l'écart de la moyenne diminue lorsque N augmente, mais le gain de précision pour une mesure est plus grand pour les petits nombres, puisqu'il ne dépend pas du nombre lui-même mais de sa racine carrée. Dans la pratique on peut donc limiter le nombre d'expériences à une dizaine de mesures pour la détermination des moyennes.

Utilisation du calcul statistique.

Un problème se pose fréquemment en chromatographie : on a déterminé les R_f moyens de deux substances ainsi que l'écart de la moyenne. Dans quelle mesure peut-on dire que cette différence est « significative », c'est-à-dire que les R_f seront toujours différents et jamais inversés ?

Le calcul de « t » donne le renseignement d'une façon très précise.

La valeur de t (test de STUDENT-FISCHER) est donnée par la formule :

$$t = \frac{\text{Différence des moyennes des } R_f}{\sqrt{\left(\frac{\sum (dx)^2 + \sum (dy)^2}{Nx + Ny - 2} \right) \left(\frac{Nx \times Ny}{Nx + Ny} \right)}}$$

— formule dans laquelle $\Sigma (dx)^2$ est la somme des carrés des différences entre une détermination et la moyenne pour la substance x et $\Sigma (dy)^2$ est la somme des carrés des différences entre une détermination et la moyenne pour la substance y ,

— N_x est le nombre de déterminations pour le produit x ,

— N_y est le nombre de déterminations pour le produit y .

Lorsque le nombre de déterminations est égal dans les deux groupes, la formule se simplifie et devient :

$$t = \frac{\text{Différence des moyennes des } R_f}{\sqrt{\text{Somme des carrés des écarts de la moyenne}}}$$

Le chiffre obtenu pour t est comparé aux tables de STUDENT-FISCHER qui figurent notamment dans l'ouvrage de MORICI et CHARTIER [59] p. 520.

On admet généralement que la différence commence à être significative lorsque la valeur absolue du nombre t , calculée par la formule précédente dépasse le nombre t (0,05 et N_1+N_2-2) lu dans la table de STUDENT. La valeur 0,05 correspond au risque d'affirmer à tort que la différence est significative alors qu'elle ne l'est pas.

En appliquant ces données théoriques à la chromatographie, plusieurs cas peuvent se présenter :

1^{er} exemple :

Mesures de R_f sur papiers imprégnés de phosphate de potassium, solvant butanol saturé d'eau : ergotamine et ésérine.

	R_f moyen $\times 100$	N	Écarts de la moyenne
Ergotamine	91	10	0,89
Esérine	53	10	1,24

$$t = \frac{91 - 53}{\sqrt{(0,89)^2 + (1,24)^2}} = \frac{38}{1,52} = 25$$

$$n = N_1 + N_2 - 2 = 10 + 10 - 2 = 18$$

Pour $n=18$ et un risque de 1%, la table donne :

$$t(0,01 \text{ et } 18) = 2,878.$$

Le chiffre trouvé : 25 est beaucoup plus grand que celui de la table. La différence est hautement significative et la méthode a toutes les chances de différencier l'ergotamine et l'ésérine (à condition de ne pas introduire de nouvelles causes d'erreur).

2^e exemple :

Même méthode que dans l'exemple précédent appliqué à l'ergotamine et à la narcotine :

	R _f moyen ×100	N	Écarts de la moyenne
Ergotamine	91	10	0,89
Narcotine	91,7	10	0,55

$$t = \frac{91,7 - 91}{\sqrt{(0,55)^2 + (0,89)^2}} = 0,66$$

$n = 18$.

Le chiffre 0,66 est compris entre les valeurs de t :

$$t(0,50 \text{ et } 18) = 0,688 \text{ et}$$

$$t(0,60 \text{ et } 18) = 0,534.$$

La différence entre les R_f moyens de l'ergotamine et de la narcotine est donc sans signification. En affirmant en effet que cette différence est significative, on aurait environ 50 chances sur 100 de se tromper. Un tel risque enlèverait toute valeur à la conclusion de l'existence d'une différence réelle entre les R_f moyens des deux substances étudiées.

Il est possible de faire le calcul en sens inverse. On pourra déterminer « d » l'écart minimum nécessaire entre deux R_f moyens pour obtenir une différence significative, à condition de connaître n et l'écart de la moyenne.

Si on désire que le risque d'erreur d'une fausse interprétation soit inférieur ou égal à 1% pour $n=18$ et pour des écarts de la moyenne de 1, il faudra que :

$$2,878 = \frac{d}{\sqrt{1^2 + 1^2}}$$

c'est-à-dire : d inférieur ou égal à 4,06.

donc une différence de R_f de 0,04.

Si on peut se contenter d'un risque d'erreur de 5%, le calcul sera :

$$2,101 = \frac{d}{\sqrt{1^2 + 1^2}}$$

c'est-à-dire : $d=2,94$

soit une différence de R_f de 0,03.

On peut donc dire que l'écart entre deux moyennes de R_f × 100 obtenues par 10 déterminations commence à être significatif à partir de 3 lorsque l'écart de la moyenne est voisin de 1.

Si on désire identifier une substance on devra en établir le R_f moyen avec la même précision que pour les témoins. Par le calcul des écarts type et de t on pourra dire que la substance à identifier se trouve être dans un groupe dont les R_f sont proches les uns des autres et peuvent s'intervertir.

Une ou plusieurs autres méthodes de séparation chromatographique (en changeant de solvant) ou par électrophorèse permettront d'éliminer la plupart des substances du groupe sauf une. Si c'est possible on se servira de révélateurs spécifiques.

Il est parfois plus simple, et la méthode est souvent utilisée, de mettre sur la même feuille la substance à caractériser et son témoin externe. On élimine ainsi à peu près totalement la plupart des facteurs faisant varier les R_f (homogénéité du papier, composition des solvants, température). On doit cependant interpréter les résultats comme plus haut en tenant compte de ce que la substance appartient à un groupe alcaloïdique dont les R_f sont très proches et peuvent s'intervertir.

Tout ce qui vient d'être dit n'est valable que si les causes d'erreurs sont toujours les mêmes et par suite applicable seulement à des solutions alcaloïdiques très pures. Mais il arrive souvent que la composition des excipients, surtout pour les pommades et les suppositoires, n'est pas indiquée dans la formule. Leur comportement au cours de l'extraction est parfois difficile à prévoir. L'extrait alcaloïdique peut alors contenir des traces d'impuretés pouvant allonger les taches et modifier les R_f . La méthode statistique et celle des témoins externes ne mettent pas, dans ce cas, à l'abri d'une grossière erreur d'interprétation. Seule l'utilisation d'un témoin interne peut donner un résultat exact. En effet si une impureté de nature inconnue modifie le R_f de l'alcaloïde à identifier, elle changera aussi celui de l'alcaloïde mis en témoin interne et on obtiendra une seule tache de R_f assez différent de celui du témoin externe.

Si, au contraire, la substance à caractériser n'est pas identique au témoin, on verra apparaître deux taches, une de même R_f que le témoin externe, l'autre étant une substance différente.

Lorsque le R_f de la tache est modifié par des impuretés, il est possible de confirmer les résultats précédents par une autre méthode. Sur le chromatogramme on dépose des volumes croissants de la substance à analyser. La modification de R_f sera généralement d'autant plus importante que le volume de la prise d'essai est plus grand.

En plus des risques d'erreurs que nous venons de voir rapidement, il en existe d'autres dus au grand nombre de produits de synthèse, aux fonctions chimiques diverses, qui peuvent apparaître par un révélateur d'alcaloïde. On ne peut donc conclure à l'identité de deux substances à la suite d'une seule chromatographie.

Nous préparons donc généralement au moins deux ou trois chromatogrammes dans des solvants différents et confirmons fréquemment les résultats par électrophorèse sur papier. Des réve-

lateurs aussi spécifiques que possible peuvent être utilisés pour certains alcaloïdes.

2) PRINCIPALES MÉTHODES UTILISÉES

De nombreuses méthodes ont été publiées pour le contrôle des médicaments renfermant des alcaloïdes.

Dans la pratique nous avons dû faire un choix et avons surtout retenu celles mises au point par MUNIER.

Première méthode.

Les solutions à analyser sont déposées sur du papier Whatman n° 1 ou 2.

Le solvant ascendant est préparé selon la formule de PARTRIDGE en prenant les précautions indiquées plus haut.

Butanol normal	..	..	..	..	..	..	..	..	..	4 volumes
Acide acétique	.	..	..	..	..	..	..	..	..	1 volume
Eau distillée	..	..	..	..	..	..	..	..	..	5 volumes

Après le dépôt des taches la feuille est placée dans la cuve au-dessus du solvant pendant 24 heures afin d'être humidifiée, puis elle est plongée dans la phase solvante. Le développement se poursuit pendant 17 à 18 heures à une température stable à 1° près et comprise entre 20 et 22°.

La feuille est ensuite séchée dans un courant d'air chaud puis on l'examine en lumière ultraviolette. Le front du solvant est très visible. On le marque d'un trait de crayon. Les taches fluorescentes sont également entourées sur l'envers de la feuille. Puis on emploie un révélateur spécifique des alcaloïques : iodobismuthique ou iodoplatinique. La quantité optimale est en général de 50 µg d'alcaloïde par tache.

On doit noter que, si on veut avoir des résultats très rapidement, on peut supprimer l'humidification de 24 heures sans amener de très grandes modifications des résultats.

Deuxième méthode.

Papier imprégné d'une solution de phosphate monopotassique M/5, MUNIER, MACHEBŒUF et CHERRIER [70].

Solvant : butanol saturé d'eau. L'humidification de la feuille pendant 24 heures est ici indispensable.

Cette méthode présente plusieurs avantages sur la précédente. Les taches sont généralement plus petites et plus ramassées. L'étalement des R_f est plus grand. Par contre, elle est un peu plus longue à réaliser et un peu moins sensible. Elle nécessite des taches d'alcaloïdes d'environ 75 à 100 µg. Cependant, pour certains alcaloïdes, on obtient des taches à partir de 15 ou 20 µg. L'utilisation du révélateur de DRAGENDORFF est plus délicate (taches

fugaces) que dans la méthode précédente. Il est préférable d'employer le révélateur iodoplatinique.

Troisième méthode.

Papier imprégné d'une solution de chlorure de potassium M/2 (MUNIER, MACHEBŒUF et CHERRIER [71]).

Solvant ascendant.

Butanol normal		98 ml
HCl concentré		2 ml
Eau Q.S. pour qu'il se sépare 1 ou 2 ml de phase aqueuse.		

L'étagement des R_f est moins bon que dans la méthode précédente, beaucoup de taches ont un $R_f > 0,95$, mais elles sont petites, ramassées et bien délimitées. La sensibilité est équivalente à celle de la première méthode. Le très gros inconvénient est la zone de démixion qui se produit toujours avec ce solvant, phénomène étudié par MUNIER et ses collaborateurs [71]. La zone de démixion est très visible aux U.V. Il faut interpréter les chromatogrammes avec beaucoup de prudence, en particulier lorsque les taches se trouvent aux environs de cette zone.

En conclusion : la première méthode permet d'obtenir le plus rapidement des résultats, la seconde permet de meilleures séparations, l'étagement des R_f étant plus grand, la troisième ne doit être utilisée que dans des cas particuliers.

DEUXIÈME PARTIE

Les Applications de l'Électrophorèse sur Papier à l'Analyse des Médicaments renfermant des Alcaloïdes.

GÉNÉRALITÉS SUR LES MÉTHODES UTILISÉES EN ELECTROPHORÈSE

Nous avons vu plus haut que l'analyse des médicaments par chromatographie était souvent complétée par une caractérisation par électrophorèse sur papier.

Etant basée sur des principes très différents on peut penser que cette méthode séparera des substances que la chromatographie n'a pu différencier. De plus, les résultats sont obtenus très rapidement, ce qui, dans certains cas, peut être important.

TRAVAUX ANTÉRIEURS

Les premières électrophorèses ont été réalisées sur gélose par FIELD et TEAGUE [28] en 1907, et avaient pour but de séparer toxine et antitoxine diphtériques.

La microélectrophorèse sur papier est utilisée plus tard en particulier par KOENIG [46] en 1937 puis en 1948 par HAUGAARD et KRONER [37] pour la séparation des amino-acides. CREMER et TISELIUS [13] fractionnent les protéines.

MACHEBŒUF, REBEYROTTE et BRUNERIE [56] utilisent également ces méthodes pour le fractionnement des protides du sérum sanguin. Les conditions opératoires ont été étudiées en particulier dans des publications de MACHEBŒUF et ses collaborateurs [57 et 55].

AUDUBERT et de MENDE [2] font une étude approfondie des principes de l'électrophorèse.

Les ouvrages de WUNDERLY [114] et de GIRARD et coll. [35] ont surtout trait à l'étude des protéines sériques et de leurs variations physiologiques et pathologiques.

Les premiers travaux sur l'analyse des alcaloïdes par électro-

phorèse sur papier remontent à 1953 : SCHOLZ et HAGEDORN [100] utilisent cette méthode pour divers produits biologiques et l'adaptent à la séparation du mélange quinine-caféine et d'autres substances médicamenteuses (antipyrine-pyramidon). DECKERS et SCHREIBER [15] caractérisent les alcaloïdes des Solanacées et identifient la brucine en présence de strychnine avec des tampons boratés ou citratés. L'électrophorèse continue leur permet de séparer des quantités suffisantes d'alcaloïdes pour les doser par des méthodes volumétriques, dans les différentes fractions. KARIYONE et ses collaborateurs [44] donnent des tableaux de migration de différentes bases alcaloïdiques, opérant à voltage variable dans l'acide acétique 5N.

En même temps, une série de travaux était commencée par PARIS et FAUGERAS [83, 23] sur les alcaloïdes et les flavonoïdes de Génistées indigènes.

Les mêmes auteurs étudient la séparation et le dosage des alcaloïdes des Jusquiames par photométrie des taches [84]. La technique est ensuite appliquée à d'autres Solanacées indigènes et exotiques [85].

Ces méthodes sont utilisées dans quelques cas difficiles de séparations d'alcaloïdes (bases pures, atropine-brucine-strychnine, cocaïne-morphine [86].

Différents végétaux à alcaloïdes ont été étudiés en électrophorèse au Laboratoire de Matière médicale de la Faculté de Pharmacie de Paris : *Rauwolfia* [77, 79, 80, 81, 17], *Vinca* [91], *Aconits* [82, 25, 26], diverses *Crassulacées* [89] et *Retama ractam* [27].

TRAVAUX PERSONNELS

1) PRÉPARATION DE LA LIQUEUR EXTRACTIVE :

On utilise les mêmes procédés que pour la chromatographie.

2) APPAREILLAGE ET UTILISATION, PAPIERS.

Nous ne rappellerons que quelques notions fondamentales pour la bonne marche des essais.

Nous utilisons l'appareil à électrorhéophorèse de MACHEBŒUF et REBEYROTTE (LÉRÈS, constructeur).

Il comporte un générateur de courant continu ayant deux réglages possibles, soit 255 volts, soit 355 volts. La tension est maintenue constante automatiquement. L'appareil peut être alimenté en courant alternatif 110, 120 et 220 volts.

À la sortie du générateur le courant est amené à deux réservoirs de matière plastique destinés à recevoir la solution d'électrolyte. Ils sont constitués chacun de deux récipients cylindriques

et concentriques comme l'indique le schéma (fig. 3). La communication électrique se fait par un petit orifice O. Ce montage a l'avantage de donner une plus grande stabilité chimique à l'électrolyte qui est en contact avec le papier à électrophorèse. En effet le passage du courant électrique produit une décomposition de l'électrolyte. Cette modification ne se communique pas aux bacs intérieurs, l'orifice O permettant le passage du courant, mais étant

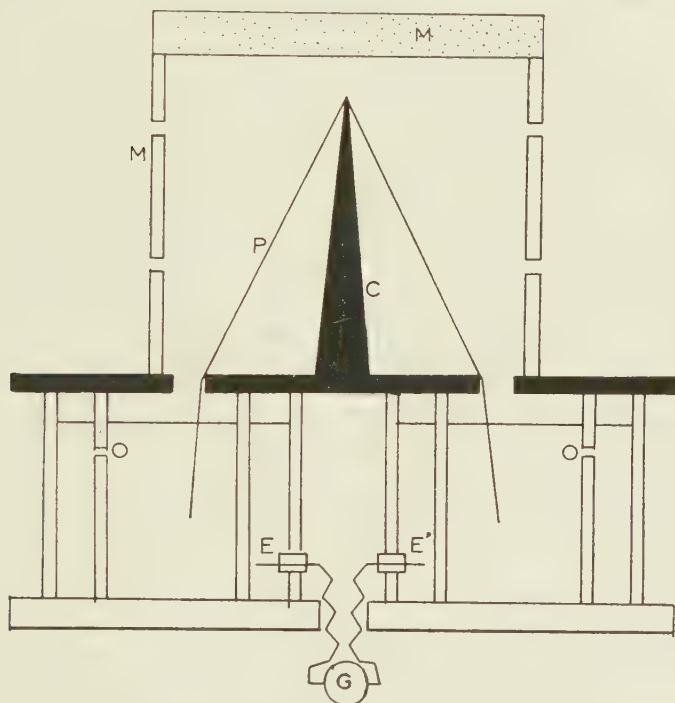


Fig. 3. — Schéma de l'appareil à électrorhéophorèse.

trop petit pour que les solutions puissent se mélanger. La feuille de papier posée sur un chevalet trempe dans les deux bacs, 22 cm étant émergés. Les dimensions du papier sont 27 cm de long sur 6 cm de large. On recouvre par un cylindre fermé à son sommet M. Cette partie de l'appareil limite l'évaporation de l'électrolyte.

L'ensemble, bac et support, peuvent être placés à l'intérieur de l'appareil ou branchés extérieurement au moyen de fiches supplémentaires placées derrière le générateur. Ce deuxième montage a l'avantage d'éloigner le papier à électrophorèse du générateur qui a tendance à devenir une source de chaleur lorsqu'il fonctionne

pendant plusieurs heures. De plus on peut, dans ce cas, intercaler facilement un milliampèremètre sur le circuit des bacs.

Il est possible d'utiliser simultanément plusieurs bacs, l'appareil pouvant débiter jusqu'à 60 milliampères.

Les bacs sont remplis de façon que le niveau du liquide dépasse de 1 cm environ l'orifice O. Le papier est posé sur son support C. Les extrémités de la feuille plongent dans les bacs et l'électrolyte monte par capillarité. Les solutions à analyser ne doivent être déposées que lorsque la bande est complètement imprégnée. Cette opération est assez longue à réaliser et on peut gagner du temps en trempant la feuille dans l'électrolyte et en l'essorant rapidement avec du papier filtre. On la place ensuite sur le support. La façon d'humidifier la bande conditionne la qualité des résultats. Si l'imbibition est insuffisante elle se complètera pendant l'analyse et créera un courant liquide à partir des bacs vers les zones insuffisamment mouillées. Les résultats seront perturbés. Il est donc prudent lorsqu'on opère de cette manière de laisser quelques instants le papier sur son support avant de déposer les solutions à analyser. On peut également vérifier au moyen du milliampèremètre que l'intensité est stable et a atteint son chiffre normal.

Le fabricant indique qu'il est nécessaire de respecter quelques détails opératoires pour obtenir de bons résultats.

Le couvercle M de l'appareil est constitué d'une matière poreuse qui doit être sèche pour que l'analyse se fasse dans de bonnes conditions. Mais pendant la durée d'une électrophorèse elle s'imprègne des vapeurs de l'électrolyte. L'appareil est vendu avec deux couvercles ce qui permet d'en changer entre deux analyses consécutives.

Si on utilise des électrolytes contenant des acides ou des bases volatiles (acide formique, ammoniacque), ce qui est le cas pour les alcaloïdes, les parties M s'en imprègnent. Il est très difficile de les en débarrasser. Il devient alors indispensable d'avoir deux jeux des pièces M ; on en réserve un pour l'électrolyte acide, l'autre pour l'électrolyte alcalin. En effet, si on recouvre une électrophorèse en milieu formique par un couvercle qui a servi récemment pour l'ammoniacque les migrations sont complètement perturbées.

Il faut aussi renouveler l'électrolyte avant que sa composition ne soit modifiée d'une façon importante, à la fois par l'évaporation et par le passage du courant électrique. Les solutions ammoniacales sont très peu stables. Elles peuvent perdre la moitié de la base, par évaporation, en quelques heures et même plus rapidement si les récipients ne sont pas fermés.

Les produits à analyser sont mis en solution de préférence dans un liquide neutre et miscible à l'eau tel que l'éthanol ou le

méthanol, ou dans la solution d'électrolyte. On peut également utiliser le chloroforme mais dans ce cas, si on dépose un grand volume (plus de 5 μ l) la goutte a tendance à couler le long de la bande ce qui fausse les résultats (taches allongées). Pour la plupart des alcaloïdes la dose optimale à déposer est comprise entre 5 μ g et 20 μ g, en solution dans 1 à 5 μ l. Mais, dans les conditions habituelles, une tache de 1 à 2 μ g est encore visible après révélation. D'autre part, une prise d'essai de 100 μ g donne une tache assez arrondie pour une séparation nette.

Papiers.

La nature du papier n'est pas indifférente. La texture doit être régulière. La dimension des canalicules agira sur la vitesse de migration, en particulier pour les très grosses molécules. Un papier trop mince retiendra moins de solution d'électrolyte, le courant électrique sera moins intense. Le pH du papier agira sur les courants d'électro-endosmose que nous allons étudier.

Les papiers Arches 301 et 302 sont généralement utilisés.

3) DÉPLACEMENT DES SUBSTANCES.

L'ion est porteur d'une charge électrique. Il est déplacé vers le pôle de charge opposée sous l'influence du courant électrique. La charge peut être positive, c'est le cas de la plupart des alcaloïdes et la migration se fera vers la cathode. Elle peut être négative et se faire vers l'anode. Certains produits tels que les amino acides ou les alcaloïdes à fonction phénol (morphine, boldine) se comportent comme un acide ou comme une base suivant le pH du milieu où ils se trouvent. Au point isoélectrique leur déplacement est nul.

La force qui tend à déplacer un ion est d'autant plus grande que la charge est plus intense. C'est cette propriété qui est mise à profit pour séparer les alcaloïdes entre eux. Mais en électrorhéophorèse plusieurs facteurs interviennent pour modifier ces résultats.

1) les *courants d'évaporation* : le passage du courant électrique est accompagné d'un échauffement de la bande. Celle-ci se trouve donc en permanence perdre par évaporation une partie de l'électrolyte qui l'imprègne. Cette perte par évaporation augmente donc avec la chaleur produite par effet Joule, qui lui même est proportionnel à la résistance du conducteur, au carré de l'intensité I et au

temps $Q = \frac{RI^2t}{A}$, A étant l'équivalent mécanique de la calorie.

Dans l'appareil décrit, on régularise les courants d'évaporation de manière à rendre les expériences reproductibles. Ils ne dépendent de la nature de l'électrolyte que dans la mesure où

l'intensité électrique en est fonction. Ils peuvent varier également avec la température ambiante, s'il se produit de gros écarts.

Le sens des courants d'évaporation varie lorsqu'on passe d'une extrémité à l'autre de la bande, l'apport de liquide se faisant à partir des deux bacs qui jouent dans ce cas le rôle de réservoir, et l'intensité est nulle au milieu de la feuille.

Ces courants sont schématisés ci-dessous par les flèches *ev*. (fig. 4).

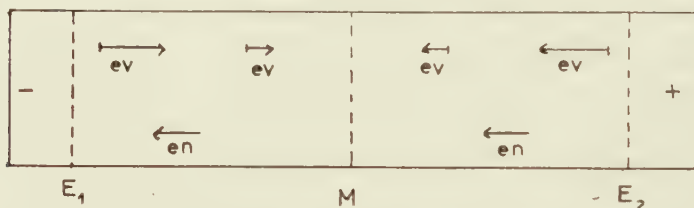


Fig. 4. — Courants subis par une substance non ionisée.
ev : courant d'évaporation ; *en* : courant d'électro-endosmose. La partie émergée est comprise entre E_1 et E_2 ; M : milieu de la bande.

2) les *courants d'électro-endosmose* (*en* sur le schéma ci-dessus) dus à une migration continuelle des ions de l'électrolyte vers la cathode du fait que le papier n'est pas neutre électriquement.

Premier exemple : déplacement d'une substance non ionisée, le glucose.

Il est possible d'étudier séparément le rôle de ces différents facteurs. Une substance telle que le glucose subit seulement l'influence des courants d'évaporation et d'électro-endosmose.

Les fig. 5 (1) et 6 (1) représentent les déplacements subis par le glucose lorsque les prises d'essais ont été déposées à différents endroits de la bande : D_1 , D_2 ... D_7 .

fig. 5 : électrolyte acide formique 1%, durée 1 heure.

fig. 6 : électrolyte ammoniacal 10%, durée 1 heure 30.

Sur tous les schémas :

D_4 est situé au milieu de la bande

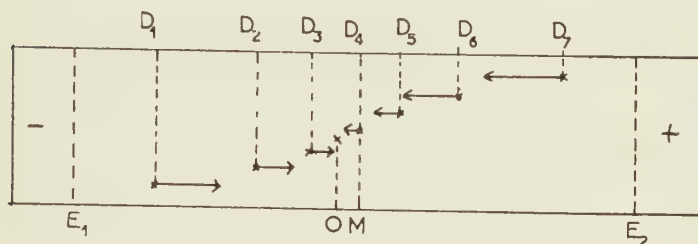
D_3 et D_5 à 1,5 cm à droite et à gauche du milieu.

D_2 et D_6 à 4 cm à droite et à gauche du milieu.

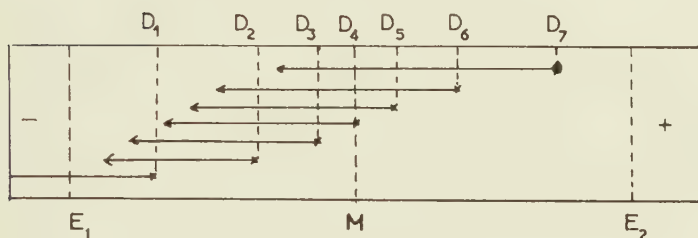
D_1 et D_7 à 8 cm à droite et à gauche du milieu.

On constate par ce moyen que la vitesse de migration d'une substance non ionisée est variable suivant la position de départ. Vers le milieu les déplacements sont moins grands (courants d'évaporation faibles). Les déplacements se font en sens inverse pour D_1 et D_7 . Quelle que soit la position de départ le glucose se dirige vers une zone située près du milieu de la bande, mais cette posi-

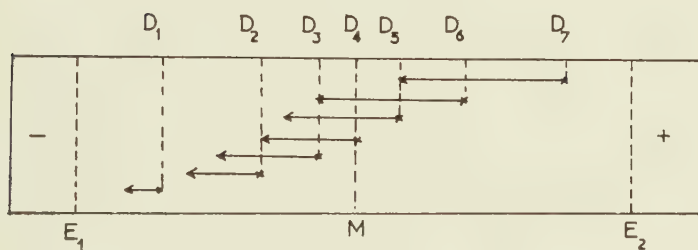
tion d'équilibre n'est atteinte qu'au bout d'un temps relativement long (plus d'une heure) si la substance a été déposée près des extrémités.



(1) glucose



(2) spartéine



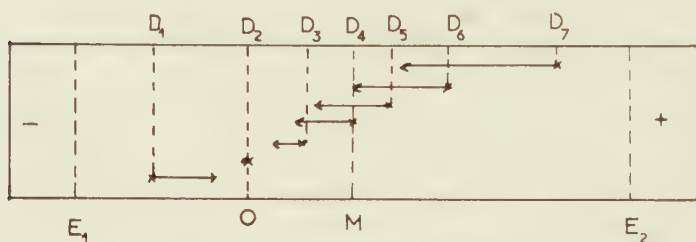
(3) morphine

Fig. 5. — Electrophorégrammes en milieu acide.

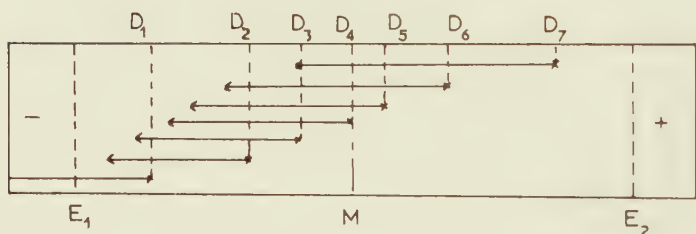
$D_1, D_2, D_3 \dots$: sont les emplacements du dépôt des gouttes ; M : la ligne médiane
La portion de papier émergée est comprise entre E_1 et E_2 .
O : zone de déplacement nul du glucose.

Electrolyte : acide formique 1 %. — Durée : une heure. — Différence de potentiel : 355 volts. — Longueur émergée : 22 cm. — Largeur : 6 cm. — Intensité : 2,5 à 3 milliampères.

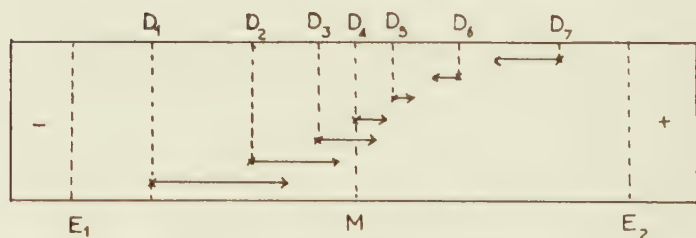
La position d'équilibre O (déplacement nul) est donc différente pour chaque électrolyte. En une heure, la position d'équilibre O n'est pas atteinte par les taches déposées aux extrémités



(1) glucose



(2) spartéine



(3) morphine

Fig. 6. — Electrophorégrammes en milieu ammoniacal.

$D_1, D_2, D_3 \dots$: sont les emplacements du dépôt des gouttes ; M : la ligne médiane. La portion de papier émergée est comprise entre E_1 et E_2 .

O : zone de déplacement nul du glucose.

Electrolyte : ammoniacque 10 %. — Durée : une heure trente minutes. — Différence de potentiel : 355 volts. — Longueur émergée : 22 cm. — Largeur : 6 cm. — Intensité : 4 à 5 milliampères.

de la bande. Elle n'est atteinte que pour les taches déposées en D_3 et D_4 . Cette position est d'ailleurs différente pour chaque électrolyte.

Deuxième exemple : substance ionisée, alcaloïde.

Une substance ionisée subit les mêmes forces de déplacement que le glucose. Il s'ajoute celles dues à sa charge électrique.

Comme pour le glucose, la vitesse de migration et la position d'arrivée dépendent de l'endroit où la prise d'essai a été déposée.

Les fig. 5 (2) et 5 (3) représentent les positions atteintes respectivement par la spartéine et la morphine lorsque les substances ont été déposées en D_1 , D_2 ... D_7 pour des électrophorèses faites en milieu acide formique à 1%, durée une heure.

Les fig. 6 (2) et 6 (3) sont la reproduction d'électrophorèses faites pendant 1 h 30 en employant l'ammoniaque à 10% comme électrolyte.

— En milieu acide, la spartéine et la morphine se déplacent vers la cathode, la vitesse de migration est plus grande pour la spartéine ce qui permet la séparation des deux alcaloïdes.

— En milieu ammoniacal, la spartéine se déplace vers la cathode assez rapidement. La morphine (alcaloïde phénolique) se déplace vers l'anode sauf en D_6 et D_7 zones où les courants d'évaporation sont trop intenses pour être vaincus.

Le pH de l'électrolyte et les caractéristiques du courant électrique, la charge électrique ont une influence sur la vitesse de migration.

Ces différents facteurs ont été étudiés d'une façon très approfondie en particulier par PARIS et FAUGERAS [23, 86, 87].

Nous rappellerons seulement les conclusions de ces études :

— L'augmentation de la différence de potentiel accélère la vitesse de migration et permet de meilleures séparations. L'intensité du courant électrique ne semble pas avoir une grande influence sur la vitesse de déplacement. Cependant, si elle est trop élevée, il se produira un échauffement de la bande qui augmentera l'évaporation.

— Le pH de l'électrolyte a une très grande importance. Les meilleures séparations entre les différents alcaloïdes se font en pH assez acide, ou assez fortement basique.

Il existe des concentrations optimales pour chaque électrolyte.

Il est, de plus, avantageux de se servir comme solution conductrice de substances volatiles qui seront éliminées du papier par un simple séchage à l'air chaud. On pourra ensuite utiliser les mêmes révélateurs qu'en chromatographie.

Les mêmes auteurs ont étudié l'influence du pH de l'électrolyte, en relation avec le pK_a et le pK_b des substances, sur la mobilité de celles-ci au cours de l'électrophorèse.

De tout ce qui précède, on déduit que la vitesse de migration d'une substance ionisée n'est directement proportionnelle, ni au temps de passage du courant, ni à la différence de potentiel. Une substance ne parcourt pas deux fois plus de chemin si on laisse passer le courant pendant deux heures au lieu d'une.

Le produit ne se déplace pas avec la même rapidité si on le dépose au centre ou aux extrémités de la bande.

Pour pouvoir mesurer les distances parcourues et rendre les expériences reproductibles il faut donc en fixer toutes les conditions expérimentales.

Parmi les solutions d'électrolytes essayées en particulier par FAUGERAS [23], nous en utilisons surtout deux qui, l'une comme l'autre, donnent de bonnes séparations des produits à étudier.

1. Solution aqueuse d'acide formique 1%.

Acide formique..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	10 ml
Eau distillée Q.S. pour	..	..	..	..	..	..	..	..	..	1000 ml

Différence de potentiel 355 volts pour 22 cm.

Intensité : début d'électrophorèse : 2,5 mA /
fin d'électrophorèse : 3 à 3,1 mA \ pour 6 cm

Durée : une heure.

Papier Arches 302.

2. Solution aqueuse concentrée d'ammoniaque diluée à 10%.

Ammoniaque concentrée (=20 % d'ammoniac)	..	..	..	..	..	..	..	..	..	100 ml
Eau distillée Q.S. pour	..	..	..	..	..	..	..	..	..	1000 ml

Différence de potentiel 355volts pour 22 cm.

Intensité : début d'électrophorèse : 3,5 à 4 mA /
fin d'électrophorèse : 5 à 5,2 mA \ pour 6 cm.

Durée : 1 h 30 mn.

Papier Arches 302.

Les substances sont déposées sur une ligne située arbitrairement à 1,5 cm du milieu de la bande et vers l'anode, puisqu'il s'agit de substances allant vers la cathode. On a ainsi une marge de déplacement plus importante.

Chaque électrophorégramme reçoit deux témoins : le glucose servant d'origine pour les mesures de distance et un alcaloïde de migration rapide tel que la spartéine permettant de contrôler la bonne marche de l'analyse. Les mesures sont faites à partir du centre des taches et exprimées en millimètres. Elles sont négatives pour le déplacement vers la cathode, positives dans le cas contraire.

Les durées d'électrophorèse peuvent être augmentées au-delà des temps indiqués, on obtiendra dans ce cas un plus grand écart entre deux substances à migration lente. Mais une substance à migration rapide telle que la spartéine sortira de la bande de papier.

De plus, en milieu ammoniacal surtout, l'appareil a tendance à s'échauffer. On risque donc en prolongeant trop longtemps l'analyse d'augmenter les courants d'évaporation, de décomposer les alcaloïdes fragiles à l'état de base ou de voir disparaître ceux qui sont volatils. D'autres diffusent ou laissent des taches résiduelles avec cet électrolyte : ces faits seront signalés aux monographies.

Comme en chromatographie, il semble nécessaire de mettre sur chaque électrophorégramme un témoin externe et même un témoin interne du produit à caractériser, la présence d'impuretés contenues dans l'extrait alcaloïdique pouvant gêner la migration de la substance à identifier.

Il existe d'autres modèles d'appareils, celui que nous avons décrit est l'un des plus robustes.

Certains comme les appareils PLEUGER (Belgique), L.K.B. (Suède) possèdent un générateur de courant dont la tension peut être amenée au chiffre désiré par un réglage manuel.

Les dimensions de l'enceinte contenant le papier conditionnent les courants d'évaporation qui sont caractéristiques de chaque type d'appareil.

Il est possible de les utiliser dans des conditions comparables à celles décrites plus haut. Les déplacements ne sont pas identiques en valeur absolue mais les résultats sont assez peu différents.

4. RÉVÉLATION

Lorsque l'électrolyte est entièrement volatil, comme c'est le cas pour les solutions formique ou ammoniacale, dont les formules sont indiquées plus haut, les électrophorégrammes sont séchés dans un courant d'air froid ou chaud ou dans une étuve jusqu'à élimination totale de l'électrolyte. On utilise ensuite les mêmes révélateurs qu'en chromatographie, lumière ultraviolette puis réactif chimique, soit par pulvérisation, soit par trempage.

Dans le cas où on veut faire une évaluation densitométrique des taches, il est préférable de tremper la bande dans le révélateur, le fond de la préparation est plus homogène.

TROISIÈME PARTIE

Évaluation quantitative des Taches

Nous venons d'étudier les conditions opératoires qui permettent l'identification des substances contenues dans un mélange par chromatographie ou électrophorèse sur papier.

Ces techniques deviennent semi quantitatives ou quantitatives par des méthodes permettant le dosage de la substance contenue dans chaque tache.

Pour obtenir de bons résultats, il est nécessaire que l'extraction préalable soit totale, que le produit extrait soit remis en solution dans un volume de solvant exactement mesuré et que le dépôt des gouttes sur le chromatogramme ou la bande à électrophorèse soit fait au moyen de pipettes très précises. Les taches doivent être bien nettes et non diffuses.

L'évaluation de la quantité de substance contenue dans une tache peut se faire, comme l'a exposé PARIS [73], de plusieurs façons, avec ou sans élution, avec ou sans utilisation de révélateur et de photomètre.

I. MÉTHODES PAR ÉLUTION

1. ELUTION DES TACHES NON RÉVÉLÉES

Cette méthode est utilisable lorsque la substance à doser se prête à une réaction colorée suffisamment sensible et stable pour qu'elle puisse être pratiquée sur des quantités de l'ordre de $10\mu\text{g}$ à $100\mu\text{g}$ de substance ou à toute autre méthode telle que la spectrophotométrie.

La position de la tache à éluer doit être repérée. Pour cela on dépose sur le même chromatogramme ou électrophorégramme, en plus des taches destinées à être éluées, deux taches, l'une du produit témoin, l'autre du produit à analyser. Ces deux dernières sont seules révélées. Les autres taches (produit à analyser et série de témoins à doses croissantes permettant l'établissement d'une courbe) sont éluées séparément.

L'élution peut se faire par de nombreux procédés, en général nous disposons la bande de papier entre deux cristallisoirs placés

à des niveaux différents, le papier servant de siphon. On limite l'évaporation du solvant en plaçant l'appareil dans une enceinte fermée. L'élution se fait au moyen d'un solvant volatil (alcool pour les alcaloïdes) car elle nécessite une quantité de liquide importante qui doit être facilement éliminée pour le dosage ultérieur.

L'élution peut également se faire (pour les alcaloïdes) en agitant le papier avec de l'eau chlorhydrique employée par fractions successives. La solution extractive est ensuite alcalinisée puis épuisée par le chloroforme. Après élimination du solvant les extraits chloroformiques alcalins correspondant aux différentes taches sont utilisés pour le dosage.

Il est nécessaire d'établir une courbe à partir d'une série de taches témoins ayant été déposées sur le même papier à électrophorèse ou à chromatographie et éluées comme le produit à doser. Il existe en effet une cause d'erreur importante provenant de la difficulté d'une élution totale à partir du papier. La méthode n'est donc valable que par comparaison. Elle est utilisée avec succès pour les amino-acides (réaction colorée avec la ninhydrine). Les alcaloïdes se prêtent plus difficilement à ces techniques car la plupart des réactions colorées sont moins sensibles.

2. ELUTION DE TACHES RÉVÉLÉES

Ce procédé de dosage est décrit et utilisé par TRABERT [108]. Le dosage colorimétrique de l'alcaloïde se fait sous forme d'iodobismuthate après élution au moyen de l'anhydride acétique de la tache révélée par le réactif de DRAGENDORFF.

II. MÉTHODES SANS ÉLUTION

La comparaison des taches avec les témoins se fait directement sur le chromatogramme ou l'électrophorégramme. Ces méthodes sont donc plus rapides que les précédentes.

1. COMPARAISON VISUELLE.

Si on ne dispose pas d'un appareil permettant la photométrie des taches, on peut cependant évaluer l'intensité visuellement par comparaison avec des témoins. En particulier, il est possible de dire si un extrait alcaloïdique renferme beaucoup moins ou beaucoup plus de la quantité indiquée par la formule. Pour obtenir une approximation suffisante, il faut opérer de la façon suivante et distinguer deux cas.

1. Le médicament contient un seul alcaloïde non accompagné de substances se révélant par le réactif utilisé : l'extrait chloroformique alcalin obtenu à partir d'une prise d'essai déterminée est mis en solution dans un volume connu de solvant (tel qu'il

soit à une concentration de 0,5 à 1%). On prépare une solution témoin du même alcaloïde à la même concentration et dans le même solvant. Sur le chromatogramme ou l'électrophorégramme, on dispose une série de taches jumelées contenant des volumes croissants et exactement mesurés des solutions du produit à analyser et du témoin. Les quantités correspondent par exemple à 10 μ g, 20 μ g, 50 μ g et 100 μ g pour une chromatographie sur papier non salé dans le solvant de PARTRIDGE. Les quantités doivent être réduites à la moitié ou au quart pour l'électrophorèse. On révèle de façon homogène. On peut alors évaluer à l'œil si les taches du produit à analyser sont d'importance comparable à celle des témoins. La méthode est suffisamment précise pour éliminer d'emblée et très rapidement un médicament qui contient une fois et demie ou deux fois la dose théorique et dont la toxicité et par suite augmentée.

2. Le médicament contient plusieurs alcaloïdes à doses très différentes. La comparaison de l'importance des taches se fait par rapport à un mélange alcaloïdique reconstitué d'après la formule indiquée par le fabricant.

On dépose une série de taches jumelées du témoin et du produit à analyser. On développe le chromatogramme ou on fait passer le courant électrique, puis on révèle les taches et on compare. La méthode au butanol saturé d'eau sur papier imprégné de phosphate monopotassique se prête mal à cette technique, en particulier lorsqu'on utilise le réactif de DRAGENDORFF, car les taches sont fugaces.

La difficulté est ici d'avoir un solvant qui donne des taches bien séparées pour tous les alcaloïdes contenus, surtout lorsque leurs proportions sont très différentes. Pour des mélanges très complexes, il est possible d'utiliser la chromatographie en deux dimensions ou encore de pratiquer la chromatographie dans un sens et l'électrophorèse dans l'autre. On peut également éliminer une substance masquant les autres par la méthode qui sera décrite p. 103 (élution sélective).

Ces méthodes par comparaison visuelle ne donnent pas des résultats très précis, mais elles sont d'une application très générale. Elles sont utilisables à partir de prises d'essai très réduites et ne nécessitent qu'un appareillage très simple. Les résultats sont obtenus très rapidement ce qui peut être très important dans le contrôle des médicaments.

2. MESURE PHOTOÉLECTRIQUE DES TACHES.

APPAREILS :

Beaucoup plus précise que la comparaison visuelle, la photométrie des taches peut réduire l'erreur jusqu'à 5% environ.

Il existe plusieurs types d'appareils décrits dans les ouvrages traitant de l'électrophorèse sur papier, en particulier dans ceux d'AUDUBERT et de MENDEL [2], de GIRARD [35] et de WUNDERLY [114].

Pour utiliser l'appareil construit par les établissements Lérès, il est nécessaire de rendre la bande transparente en l'imprégnant d'un mélange d'huile de paraffine et de bromonaphtalène à parties égales. La bande se déplace régulièrement entre une source lumineuse et une cellule photoélectrique. Le courant produit entraîne le déplacement d'un spot lumineux sur une plaque photographique. La courbe de lumière transmise se trouve enregistrée. Cet appareil ne possède pas de filtres colorés.

Pour une autre catégorie d'appareils tels que Photovolt, il n'est pas nécessaire de rendre le papier transparent. Un dispositif permet l'utilisation d'un ou plusieurs écrans colorés et de lumière ultraviolette. Le courant électrique fourni par la cellule est mesuré par un galvanomètre dont l'aiguille se déplace devant un cadran donnant la densité optique et le pourcentage de lumière transmise. La courbe correspondante peut être établie. L'intensité d'une tache est proportionnelle à la surface qui lui correspond dans la courbe et qui peut être mesurée par pesée ou planimétrie.

L'appareil Photovolt Lumétron permet de simplifier cette mesure. En effet le rapport de l'intensité de deux taches est proportionnel à celui des sommes des densités optiques lues millimètre par millimètre pour chacune des deux taches.

Un troisième type d'appareil (Intégraph Elphor) fait automatiquement cette dernière opération. Il donne le pourcentage des substances contenues par intégration directe de la courbe et mesure de la hauteur des paliers.

UTILISATION :

Utilisés d'abord pour le dosage des différentes fractions des protéides du sérum sanguin, ces appareils sont maintenant d'un emploi courant pour d'autres substances. Citons en particulier, en ce qui concerne les alcaloïdes, les flavonoïdes, les dérivés coumariniques, les travaux de FAUGERAS [23] et de PARIS et FAUGERAS [84] et pour les glucosides digitaliques, celui de STOLL et RUEGGER [104].

Ces auteurs ont été amenés à étudier d'une façon très précise les conditions opératoires permettant d'obtenir les meilleurs résultats.

Ce sont en particulier :

1. L'utilisation d'un révélateur donnant un bon contraste entre la tache et le fond de la préparation et réparti de façon homogène sur toute la surface à révéler : il est préférable d'immerger le papier dans le révélateur plutôt que de le pulvériser.

2. Le choix de l'écran coloré donnant le maximum d'écart de densité optique pour deux taches d'intensité différentes, avec un minimum de variation de densité du fond de la préparation.

3. L'établissement d'une courbe à partir de quantités croissantes de substance étalon mise en solution dans le même volume pour toutes les prises d'essai. La surface des taches et par suite les volumes déposés doivent être égaux pour que la lecture soit précise.

Ces méthodes donnent des résultats assez précis (erreur de 5%) et sont les seules qui permettent d'obtenir rapidement une évaluation d'alcaloïdes dans des mélanges complexes à partir de prises d'essai réduites.

QUATRIÈME PARTIE

Analyse de Médicaments renfermant des Alcaloïdes

TRAVAUX ANTÉRIEURS

(Ils sont rappelés brièvement p. 17 à 19 et 49-50)

TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE PREMIER

MÉDICAMENTS RENFERMANT DES ALCALOÏDES ET DES EXCIPIENTS OU DES SUBSTANCES NE DONNANT PAS SUR PAPIER LES RÉACTIONS DES ALCALOÏDES

Avant de commencer l'extraction des alcaloïdes, on vérifie qu'aucune autre substance entrant dans la composition du médicament ne donne, sur papier, les réactions des alcaloïdes avec l'iodobismuthate et l'iodoplatinate de potassium.

Pour cela, on dépose sur un papier à chromatographie des gouttes de solutions témoins des substances (5 μ l de solution à 5% dans un solvant volatil) et on traite directement par les révélateurs : réactifs de DRAGENDORFF ordinaire et formule IV et réactif iodoplatinique.

Une liste sera établie plus loin des substances les plus couramment utilisées qui perturbent la recherche des alcaloïdes ; mais l'industrie pharmaceutique fournissant chaque jour de nouveaux produits, il est pratiquement impossible d'être complet.

Pour la commodité de l'exposé, les alcaloïdes vrais ou naturels ont été séparés des produits de synthèse partielle ou totale (dérivés acétylés, méthylés, géalcaloïdes...).

I. ALCALOÏDES ÉTUDIÉS

A) ALCALOÏDES VRAIS OU NATURELS

Nous donnons ici une liste des alcaloïdes entrant fréquemment dans la composition des médicaments en signalant leurs particularités, tant d'extraction que de révélation, ainsi que leur R_f dans trois solvants et leurs déplacements en électrophorèse.

a) EXTRACTION

Nous avons vu plus haut l'intérêt d'une purification des solutions alcaloïdiques extractives par un épuisement par le chloroforme en milieu acide. Cependant cette méthode n'est pas toujours utilisable : un certain nombre d'alcaloïdes sont extraits à l'état de trace dans ces conditions ; quelques-uns sont suffisamment solubles pour pouvoir l'être totalement.

La solubilité dans le chloroforme a donc été évaluée dans les conditions suivantes :

On dissout 25 mg d'alcaloïde dans 15 ml d'eau distillée additionnée de quelques gouttes d'acide sulfurique à 10% p/v. On épuise dans une ampoule à décantation par 15 ml de chloroforme en agitant énergiquement à deux ou trois reprises pendant quelques secondes. Le chloroforme séparé est séché sur du sulfate de sodium anhydre, puis filtré et évaporé.

Dans un premier temps, le résidu alcaloïdique est repris par 1,25 ml. d'alcool-chloroforme à parties égales. Les alcaloïdes pour lesquels la réaction de DRAGENDORFF est positive pour une tache de 5 μ l (renfermant donc au moins 5 μ g d'alcaloïdes) sont relativement solubles dans le chloroforme en milieu acide : c'est la *catégorie 1* du tableau à laquelle appartiennent notamment la caféine, la papavérine.

Si la réaction est négative, la solution alcool-chloroforme est concentrée à 0,25 ml. Pour les alcaloïdes de la *catégorie 2* la réaction est alors positive pour des taches de 5 μ l correspondant à 5 μ g.

On a extrait :

$$\frac{0,000\ 005 \times 0,25}{0,005} = 0,00025\ g$$

soit 1% de la prise d'essai.

Dans ce cas, des extractions répétées par le chloroforme en milieu acide entraîneraient donc une perte de ces alcaloïdes (aconitine, boldine, brucine).

Si la réaction est négative dans les conditions précédentes, la solution est concentrée à une goutte. Les alcaloïdes que nous rangeons dans la *catégorie 3* donnent alors une réaction positive

(codéine, pilocarpine). Leur faible solubilité en milieu acide n'apporte pas de perturbations dans les conditions normales d'analyse.

Les alcaloïdes qui ne donnent aucune réaction après concentration maximale sont rangés dans la *catégorie 4* (apomorphine, spartéine, atropine).

b) CHROMATOGRAPHIE

Elle a été effectuée systématiquement pour chaque substance par les trois méthodes indiquées plus haut (voir p. 47) et toujours eu chromatographie ascendante.

Certains R_f avaient été déjà mesurés.

MUNIER et ses collaborateurs ont déterminé les R_f d'un certain nombre d'alcaloïdes dans les trois solvants choisis. Ces résultats suivis de la lettre (M) sont indiqués à côté de nos résultats personnels.

SALVESEN et PAULSEN [98] ont mesuré les R_f de quelques analgésiques apparentés à la morphine en utilisant le solvant butanol, acide acétique, eau (4; 1, 5). Ces résultats seront également indiqués dans les monographies, ainsi que ceux publiés par SABON et MONNET [97] pour les produits voisins de la codéine.

Nous avons aussi donné les résultats obtenus avec un solvant particulier étudié par JAMINET [39] :

Isobutanol	..	..	..	..	..	..	..	85 ml
Acide chlorhydrique concentré	..	..	..	..	..	..	..	15 ml
Eau Q.S. pour saturer.								

permettant d'identifier la cocaïne parmi les anesthésiques locaux de synthèse.

Les R_f déterminés dans ce travail sont la moyenne d'au moins une dizaine de résultats. Ils sont accompagnés du calcul statistique de l'écart type, de l'écart de la moyenne et du nombre de déterminations faites. Ces chiffres permettent d'apprécier la valeur de la méthode et la précision des résultats.

En particulier, on constate que, lorsque plusieurs alcaloïdes ont des R_f très proches, il est impossible de conclure au moyen d'un seul solvant.

Pour la commodité du calcul, les R_f ont été multipliés par 100, chaque fois que l'écart type a été déterminé.

Toutefois, pour les R_f supérieurs à 0,95, le chiffre donné ne correspond qu'à deux ou trois déterminations, il n'a donc pas été accompagné du calcul statistique.

c) ELECTROPHORÈSE

Les déplacements en électrophorèse sont donnés pour deux électrolytes : solution d'acide formique à 1% et solution d'ammoniaque à 10% (voir p. 58-59).

Les chiffres positifs correspondent aux déplacements vers l'anode, les négatifs aux déplacements vers la cathode.

ACONITINE ($C_{34}H_{47}NO_{11}=646$).

Alcaloïde extrait de l'*Aconitum napellus* L., Renonculacées (racines et feuilles).

Structure complexe rattachée aux diterpènes, diester : acétylbenzoylaconine.

EXTRACTION

En milieu acide : catégorie 2.

En milieu ammoniacal : base d'alcaloïde très soluble dans le chloroforme mais facilement décomposable.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration jaune orangé assez peu intense, diffuse.

Réactif iodoplatinique : coloration mauve devenant brunâtre, peu visible.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	88,18	11	1,66	0,50
Butanol saturé d'eau ..	84,9	10	4,38	1,39
Butanol chlorhydrique... >	95	7		

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % .. 1 h — 30 mm

Ammoniaque 10 % .. 1 h 30 mn + 2 mm
(tache diffuse)

AJMALINE ($C_{20}H_{26}O_2N_2=326$)

Alcaloïde de certains *Rauwolfias* : *Rauwolfia serpentina* Benth., *Rauwolfia vomitoria* Afz., *Rauwolfia tetraphylla* L., Apocynacées.

Noyau indole.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 4.

Chloroforme ammoniacal : base pouvant être extraite par le chloroforme en milieu ammoniacal.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	91	9		
Butanol saturé d'eau ..	> 95	3		
Butanol chlorhydrique... >	95	3		

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % .. 1 h — 38 mm

Ammoniaque 10 % .. 1 h 30 mn + 3 mm

ARÉCOLINE ($C_8H_{13}NO_2=155$)

Alcaloïde extrait de l'*Areca catechu* L., Palmiers (graine ou noix d'Arec).

Noyau pyridine - ester méthylque de l'arécaïdine.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 3 ou 4.

Chloroforme ammoniacal : base très soluble dans l'eau et les solvants organiques, difficile à extraire de ses solutions aqueuses.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration rosée et diffuse, devenant orangée et se stabilisant après quelques instants.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée apparaissant après quelques instants, puis s'effaçant en quelques jours.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique... ..	53	10	2,53	0,8
Butanol saturé d'eau. ..	16,4	10	2,54	0,84
Butanol chlorhydrique...	41 (M)			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. 1 h — 77 mm

Ammoniaque 10%.. .. 1 h 30 mn 0 mm

ATROPINE ($C_{17}H_{23}NO_3=289$)

Alcaloïde extrait de différentes Solanacées : notamment *Atropa belladonna* L., *Datura stramonium* L. Provient de la racémisation de l'hyoscyamine, isomère lévogyre.

Ester du tropanol (pyrrolidine + pipéridine) et de l'acide *dl*-tropique.

Non hydrolysée dans les conditions habituelles d'extraction.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 4.

Chloroforme ammoniacal : base très soluble, extraction facile.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé, stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique . . .	73,17	17	3,76	0,91
Butanol saturé d'eau. ..	50 (M)			
	48,4	10	6,05	1,9
Butanol chlorhydrique...	88 (M)			

Solvant spécial étudié par MUNIER [64] permettant de séparer l'atropine de la génatropine voir p. 92 à *Génatropine*.

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. 1 h — 51 mm

Ammoniaque 10% . . 1 h 30 mn — 18 mm

BERBÉRINE ($C_{20}H_{19}NO_5=353$)

Alcaloïde extrait de l'*Hydrastis canadensis* L. Renonculacées, de nombreux *Berberis* (Berbéridacées) et de la Chélidoïne : *Chelidonium majus* L. Papavéracées.

Noyau isoquinoléine. Ammonium quaternaire.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 3 ou 4.

Chloroforme ammoniacal : base peu soluble dans le chloroforme, mais soluble dans l'eau, surtout à chaud. Difficile à extraire quantitativement par la méthode générale.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence jaune intense.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée peu intense.

Réactif iodoplatinique : coloration brunâtre stable pendant quelques jours.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	73,36	11	4,73	1,43
Butanol saturé d'eau. . .	39,5	10	4,9	1,55
Butanol chlorhydrique...	tache allongée comprise entre 45 et 85.			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% . . .	1 h	— 17 mm (tache légèrement allongée)
Ammoniaque 10% . . .	1 h 30 mn	(tache allongée)

BOLDINE ($C_{19}H_{21}O_4N$ 327)Alcaloïde extrait du *Peumus boldus* Molina, Monimiacées.

Noyau aporphine (isoquinoléine + phénanthrène). Deux hydroxyles phénoliques.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 2.

Chloroforme ammoniacal : soluble.

Ne pas utiliser la soude ou la potasse qui solubilisent la boldine dans la phase aqueuse.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence bleutée faible.

Réactif de DRAGENDORFF : tache jaune orangé brunissant en 24 ou 48 h.

Réactif iodoplatinique : tache violacée apparaissant après 15 à 30 mn.

Réactif au chlorure ferrique : tache apparaissant après quelques heures, nette pour 50 microgrammes.

Réactif à la *p*-nitraniline : très sensible, très grosses taches brunes pour 50 microgrammes.**CHROMATOGRAPHIE**

	R_f moyen <100	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	68,58	12	3,65	1,05
Butanol saturé d'eau. ..	35,4	10	3,44	1,08
Butanol chlorhydrique...	91 (M).			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 25 mm (tache un peu allongée)
Ammoniaque 10%.. ..	1 h 30 mn	+ 33 mm

BRUCINE ($C_{23}H_{26}N_2O_4 \cdot 4H_2O=466$)Alcaloïde extrait de diverses Strychnées, en particulier du *Strychnos nux-vomica* L., Loganiacées. Structure complexe rattachée au noyau indole. Diméthoxystrychnine.**EXTRACTION**

Chloroforme acide : catégorie 2.

Chloroforme ammoniacal : très soluble.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence dans les conditions habituelles.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleue stable.

Réactif à l'acide nitrique nitreux : coloration orangée. Réaction négative pour la strychnine.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	68,5	12	4,21	1,2
Butanol saturé d'eau. ..	32 (M)			
	32,9	10	4,38	1,38
Butanol chlorhydrique...	69 (M)			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 35 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	+ 5 mm

CAFÉINE ($C_8H_{10}N_4O_2$, $H_2O=212$)

Alcaloïde extrait : des Caféiers : *Coffea* divers, Rubiacées ; du Théier : *Thea sinensis* Link., Ternstroemiacees ; de la Kola : *Cola nitida* A. Chev., Sterculiacees ; du Maté : *Ilex paraguariensis* St. Hil., Ilicacees.

C'est la triméthyl 1, 3, 7 dioxo 2 - 6_x purine.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 1.

Chloroforme ammoniacal : soluble.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF ordinaire : pas de coloration, il faut utiliser la formule IV, moins diluée que pour les alcaloïdes classiques (voir p. 37).

Réactif iodoplatitique : pas de tache pour 5 μ g d'une solution de caféine à 2%.

Réaction de la murexide : voir aux révélateurs p. 40.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	84 (M)			
	79,9	10	1,10	0,35
Butanol saturé d'eau. ..	79,2	10	3,82	1,21
Butanol chlorhydrique...	81,4	10	3,22	1,02

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	0
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	0

CICUTINE ($C_8H_{17}N=127,1$)

(Conicine, Conine).

Alcaloïde de la Ciguë : *Conium maculatum* L., Umbellifères.

Noyau pipéridine. Base forte, volatile.

EXTRACTION

Extraction par les solvants rendue non quantitative du fait de sa volatilité.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatitique : coloration violacée assez faible et peu stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen < 100	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	76,45	11	3,53	1,06
Butanol saturé d'eau. ..	54,5	12	1,88	0,54
Butanol chlorhydrique...	92,6	10	2,04	0,64

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 70 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	les taches disparaissent

COCAÏNE ($C_{17}H_{21}O_4N$ 303).

Alcaloïde extrait des feuilles de Coca : *Erythroxylon coca* Lamk.,
Linacées.

Noyau du tropanol : méthylbenzoylecgonine.

Alcaloïde s'hydrolysant assez facilement.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 3.

Le chlorhydrate est très soluble dans le chloroforme.

Chloroforme ammoniacal : base très soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen x 100	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	81	15	4,62	1,19
Butanol saturé d'eau ..	58	18	7,8	1,84
Butanol chlorhydrique...	88 (M)			
Isobutanol chlorhydrique.	83 (JAMINET [39])			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % .. 1 h — 51 mm

Ammoniaque 10 % .. 1 h 30 mn 0

CODÉINE ($C_{18}H_{21}O_3N$, $H_2O=317$)

Alcaloïde extrait de l'opium et des capsules de Pavot de différentes variétés de *Papaver somniferum* L., Papavéracées.

Méthylmorphine.

Noyaux isoquinoléine + phénanthrène.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 3 ou 4.

Chloroforme ammoniacal : base très soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen x 100	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	63,64	11	2,29	0,70
Butanol saturé d'eau ..	22 (M)			
	24,18	11	1,66	0,50
Butanol chlorhydrique .	61 (M)			
	62 (SABON et MONNET [97])			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % .. 1 h — 51 mm

Ammoniaque 10 % .. 1 h 30 mn 0

COLCHICINE ($C_{22}H_{25}O_6N = 399$)

Alcaloïde retiré de Liliacées et en particulier du *Colchicum autumnale* L.

Noyau tropolone : azote extra nucléaire.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 1.

Chloroforme ammoniacal : la base est assez soluble dans l'eau, très soluble dans le chloroforme.

Base faible donnant des sels facilement dissociables.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence jaune nette.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée faible.

Coloration orangée nette en utilisant le même révélateur que pour les bases xanthiques (formule IV).

Réactif iodoplatinique : coloration brunâtre peu visible.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique ..	91	11	1,55	0,47
Butanol saturé d'eau. ..	95,7	10	3,12	0,99
Butanol chlorhydrique... > 95		8		

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % .. 1 h 0

Ammoniaque 10 % .. 1 h 30 mn + 3 mm

ÉMÉTINE ($C_{29}H_{40}O_4N_2$, 2 ClH, 3,5 OH₂=617)

Utilisée sous forme de chlorhydrate.

Alcaloïde retiré des Ipécas : *Cephaelis ipecacuanha* A. Rich., *Cephaelis acuminata* Karst., Rubiacées.

Noyau de l'isoquinoléine.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 3 bien que le chlorhydrate soit soluble dans le chloroforme.

Chloroforme ammoniacal : la base est soluble à la fois dans l'eau et le chloroforme, elle est assez peu stable, surtout à la lumière. On peut cependant l'extraire de ses solutions aqueuses par le chloroforme alcalin, ammoniacal ou sodique.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence bleue nette.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	72,6	10	4,52	1,43
Butanol saturé d'eau ..	33,8	10	4,1	1,3
Butanol chlorhydrique . > 95		8		

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % .. 1 h — 59 mm

Ammoniaque 10 % .. 1 h 30 mn + 13 mm

la tache est un
peu allongée

ÉPHÉDRINE ($C_{10}H_{15}ON = 165$)

Alcaloïde extrait de divers *Ephedra* notamment d'*Ephedra sinica* Stapf et d'autres espèces de Chine et d'*Ephedra nebrodensis* Tineo, d'Espagne, Gnétacées.

Phényl 1 méthylamino 2 propanol 1.

Alcaloïde naturel lévogyre. Alcaloïde synthétique racémique.

EXTRACTION

Difficile par les solvants organiques. Base volatile soluble à la fois dans l'eau et les solvants organiques. Extraction quantitative très difficile.

RÉVÉLATEURS

Avant révélation, ne pas sécher les taches à trop haute température.

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : aucune coloration, même pour une tache de 200 μg .

Réactif de DRAGENDORFF concentré : très faible coloration orangée pour une tache de 200 μg .

Réactif iodoplatinique : pas de coloration, même pour une tache de 200 μg .

Réactif à la ninhydrine : coloration violacée visible après chromatographie pour une tache de 20 μg .

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen / 100	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	81 (M)			
	73,2	10	2,09	0,66
Butanol saturé d'eau . .	45,5	10	4,64	1,47
Butanol chlorhydrique...	90,5	10	2,07	0,65

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % . .	1 h	— 62 mm
Ammoniaque 10 % . .	1 h 30 mn	— 15 mm

ERGOTAMINE ($C_{33}H_{35}N_5O_5=581$)

Alcaloïde extrait de l'ergot de Seigle : *Claviceps purpurea* Fries. Ascomycètes, Clavicipitales.

Alcaloïde polypeptidique dérivé de l'acide lysergique (noyau de l'ergoline : indole + quinoléine hydrogénée).

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 2.

Chloroforme ammoniacal : base pouvant être extraite par le chloroforme ammoniacal.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence bleu violacé nette.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration jaune orangé peu intense.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée faible devenant nette.

On peut également utiliser les révélateurs du noyau indole (voir p. 39).

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen < 100	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique.. ..	90,1	10	2,92	0,92
Butanol saturé d'eau ..	91	10	2,83	0,89
Butanol chlorhydrique... > 95		5		

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. 1 h — 21 mm

Ammoniaque 10% .. 1 h 30 mn Tache résiduelle

ÉSÉRINE ($C_{15}H_{21}O_2N_3=275,3$).

(Physostigmine).

Alcaloïde de la Fève de Calabar : *Physostigma venenosum* Balf.,

Légumineuses.

Alcaloïde rattaché au noyau de l'indole.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 3 ou 4.

Chloroforme ammoniacal : base soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	71,5	10	4,73	1,43
Butanol saturé d'eau ..	57 (M)			
	53	10	3,91	1,24
Butanol chlorhydrique .	91,6	10	3,22	1,02

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. 1 h — 51 mm

Ammoniaque 10% .. 1 h 30 mn 0

HORDÉNINE ($C_{10}H_{15}NO=165,1$)

Alcaloïde de l'Orge germé : *Hordeum vulgare* L., Graminées.
p-oxyphényléthylidiméthylamine.
Base tertiaire à fonction phénol.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 4.
Base forte, déplace l'ammoniaque de ses sels à froid.
Chloroforme ammoniacal : base un peu soluble dans l'eau et très soluble dans le chloroforme.
Peut être extraite par le chloroforme en milieu ammoniacal.
Sublimable à 140°-150°.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.
Réactif de DRAGENDORFF : coloration jaune orangé.
Réactif iodoplatinique : coloration bleue.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	67 (M)			
	61,18	11	3,48	1,05
Butanol saturé d'eau ..	20 (tache allongée)			
Butanol chlorhydrique...	66,5	10	3,02	0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % .. 1 h — 65 mm
Ammoniaque 10 % .. 1 h 30 mn 0

HYDRASTINE ($C_{21}H_{21}O_6N=383$)

Alcaloïde extrait de l'*Hydrastis canadensis* L., Renonculacées.
Noyau isoquinoléine.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 1.
Chloroforme ammoniacal : base soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence bleutée nette.
Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.
Réactif iodoplatinique : coloration violacée stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	78,92	12	3,65	1,05
Butanol saturé d'eau. ..	76,91	11	3,59	1,09
Butanol chlorhydrique...	93 (M)			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % .. 1 h — 43 mm
Ammoniaque 10 % .. 1 h 30 mn + 3 (tache résiduelle)

HYOSCYAMINE ($C_{17}H_{23}NO_3 = 289$)

Alcaloïde extrait de diverses Solanacées : *Hyoscyamus niger* L.,
Hyoscyamus muticus, *Duboisia Leichhardtii* F. Muell. etc.
 Isomère lévogyre de l'atropine.

EXTRACTION

Se comporte chimiquement comme l'atropine. Se racémise facilement en atropine au cours de l'extraction.

RÉVÉLATEURS

CHROMATOGRAPHIE (Voir *Atropine* p. 71

ELECTROPHORÈSE

Dans les conditions indiquées, les deux isomères atropine et hyoscyamine ne sont séparés ni en chromatographie, ni en électrophorèse.

LOBÉLINE ($C_{22}H_{27}NO_2 = 337,5$)

Alcaloïde extrait de diverses Lobélies : *Lobelia inflata* L.,
L. urens L., etc. Lobéliacées.
 Noyau pipéridine.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 1.

Chloroforme ammoniacal : base très soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	91,83	12	1,87	0,54
Butanol saturé d'eau ..	85,64	11	4,67	1,41
Butanol chlorhydrique .	>95	8		

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % ..	1 h	— 43 mm
Ammoniaque 10 % ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

MORPHINE ($C_{17}H_{19}NO_3=285$).

Alcaloïde extrait de l'opium et des capsules de Pavot de différentes variétés de *Papaver somniferum* L., Papavéracées.

Noyau isoquinoléine + phénanthrène ; hydroxyle phénolique.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 3 ou 4.

Chloroforme ammoniacal : base très peu soluble dans l'eau, peu soluble dans le chloroforme.

Extraction longue. Compléter l'extraction par un alcool de poids moléculaire élevé.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée, moins intense que pour les autres alcaloïdes, brunit à la longue.

Réactif iodoplatitique : coloration bleue stable.

Réactifs de la fonction phénol : le chlorure ferrique est moins sensible que les réactifs précédents.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	54 (SALVESEN et PAULSEN [98])			
Butanol saturé d'eau ..	14 (M)			
	15,79	19	1,22	0,28
Butanol chlorhydrique...	49 (SABON et MONNET [97]).			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. 1 h — 51 mm

Ammoniaque 10% .. 1 h 30 mn + 29 mm

NARCÉINE ($C_{23}H_{27}O_8N=445,5$)

Alcaloïde extrait de l'opium et des capsules de Pavots de différentes variétés de *Papaver somniferum* L., Papavéracées.

Noyau isoquinoléine, fonction acide.

Donne des sels cristallisés avec les acides et avec les bases.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 3.

Chloroforme ammoniacal : base très faible, très peu soluble dans l'eau et le chloroforme.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : très faible fluorescence bleutée.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration brun noir.

Réactif iodoplatitique : coloration bleu violacé stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	78,2	10	2,44	0,77
Butanol saturé d'eau ..	70 tache généralement allongée			
Butanol chlorhydrique .	74,1	10	4,62	1,46

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. 1 h — 27 mm

Ammoniaque 10% .. 1 h 30 mn + 21 mm

NARCOTINE ($C_{22}H_{23}O_7N=413$) = NOSCAPINE

Alcaloïde extrait de l'opium et des capsules de Pavots de différentes variétés de *Papaver somniferum* L., Papavéracées.

Noyau isoquinoléine.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 1. Sels très facilement dissociables dont on peut extraire la base par simple agitation avec du chloroforme.

Chloroforme ammoniacal : base très faible, insoluble dans l'eau, peu soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : faible fluorescence grisâtre.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	81,63	11	3,44	1,04
Butanol saturé d'eau ..	91 (M)			
	91,7	10	1,73	0,55
Butanol chlorhydrique...	94 (M)			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % ..	1 h	— 40 mm
Ammoniaque 10 % ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

PAPAVÉRINE ($C_{20}H_{21}O_4N=339$)

Alcaloïde extrait de l'opium et des capsules de Pavots de différentes variétés de *Papaver somniferum* L., Papavéracées.

Noyau isoquinoléine.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 1.

Chloroforme ammoniacal : base à peine soluble dans l'eau, soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence jaune verdâtre nette.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	81,9	11	4,50	1,36
Butanol saturé d'eau ..	91,68	16	3,25	0,84
Butanol chlorhydrique...	94 (M)			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % ..	1 h	— 43 mm
Ammoniaque 10 % ..	1 h 30 mn	+ 10 mm
		tache un peu allongée

PILOCARPINE ($C_{11}H_{16}O_2N_2 = 208$)

Alcaloïde des Jaborandis : *Pilocarpus jaborandi* Holmes, *Pilocarpus pennatifolius* Lem., *Pilocarpus microphyllus* Stapf., Rutacées.

Noyau glyoxaline ou imidazole, fonction lactone.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 3 ou 4.

Chloroforme ammoniacal : base un peu soluble dans l'eau et soluble dans le chloroforme.

En milieu alcalin et à chaud, ouverture du cycle lactonique et formation du sel alcalin de l'acide pilocarpinique, soluble dans l'eau.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration rose orangé.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	55,27	11	2,68	0,81
Butanol saturé d'eau. ..	20,81	11	6,32	1,90
Butanol chlorhydrique...	44 (M)			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. 1 h — 65 mm

Ammoniaque 10% .. 1 h 30 mn 0

QUINIDINE ($C_{20}H_{24}N_2O_2 = 324,2$)

Alcaloïde extrait des écorces de Quinquinas : *Cinchona calisaya* Wedd., *C. succirubra* Pav., etc., Rubiacées.

Séréoisomère de la quinine, noyau quinoléine.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 4.

Chloroforme ammoniacal : base très soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence bleue faible pour la base, très forte après pulvérisation d'acide sulfurique dilué.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	86,2	10	2,7	0,85
Butanol saturé d'eau ..	85,8	10	3,2	1,01
Butanol chlorhydrique...	95	9		

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. 1 h — 82 mm

Ammoniaque 10% .. 1 h 30 mn + 7
tache un peu
allongée

QUININE ($C_{20}H_{24}O_2N_2$ 324,2)

Alcaloïde extrait des écorces de Quinquina : *Cinchona calisaya* Wedd., *C. succirubra* Pav., *C. ledgeriana* Moens, etc., Rubiacées.
Noyau quinoléine.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 4.

Chloroforme ammoniacal : base très soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence bleue faible pour la base, très forte après pulvérisation d'acide sulfurique dilué.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	84,63	11	4,06	1,22
Butanol saturé d'eau . . .	83	10	7,74	2,47
Butanol chlorhydrique . .	94 (M)			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % 1 h — 82 mm

Ammoniaque 10 % 1 h 30 mn + 7 mm
tache un peu
allongée

RESCINNAMINE ($C_{35}H_{42}N_2O_9$ = 634,7)

Alcaloïde extrait de certains Rauwolfias : *Rauwolfia serpentina* Benth., *Rauwolfia vomitoria* Afz., *Rauwolfia tetraphylla* L., Apocynacées.

Noyau indole. Triméthoxycinnamate de réserpyle.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 1.

Chloroforme ammoniacal : base soluble dans le chloroforme ammoniacal.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence bleu vert en milieu acide.

Réactif de DRAGENDORFF ordinaire : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée peu intense.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,90
Butanol saturé d'eau . . .	>0,95
Butanol chlorhydrique... .	>0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % 1 h — 8 mm

Ammoniaque 10 % 1 h 30 mn tache résiduelle

RÉSERPINE ($C_{33}H_{40}O_9N_2=608$)

Alcaloïde extrait de certains *Rauwolfias* : *Rauwolfia serpentina* Benth., *Rauwolfia vomitoria* Afz., *Rauwolfia tetraphylla* L., Apocynacées.

Noyau indole. Triméthoxybenzoate de réserpyle.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 1.

Le chlorhydrate est très soluble dans le chloroforme.

Chloroforme ammoniacal : base très soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS :

Lumière ultraviolette : faible fluorescence jaune sale pour la base devenant bleu verdâtre intense en milieu acide.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée peu visible, devenant plus nette après quelques instants.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	94,3	10	2,05	0,65
Butanol saturé d'eau ..	91,9	10	2,6	0,82
Butanol chlorhydrique...	>95	4		

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 14 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

SCOPOLAMINE ($C_{17}H_{21}NO_4=303$)

(Hyoscine)

Alcaloïde extrait de diverses Solanacées : *Hyoscyamus niger* L., *Hyoscyamus muticus* L., *Duboisia myoporoides* R.Br., *Datura metel* L., *Scopolia carniolica* Jacq.

Ester du scopanol (groupement époxyde) et de l'acide tropique gauche.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 4.

Chloroforme ammoniacal : base soluble dans l'eau et très soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	63,54	11	3,31	1
Butanol saturé d'eau ..	32,09	11	3,39	0,96
Butanol chlorhydrique...	66 (M)			

Solvant spécial étudié par MUNIER [64] permettant de séparer scopolamine et génoscopalamine (voir à *Génoscopalamine*, p. 93).

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 51 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	0

SPARTÉINE ($C_{15}H_{25}N_2=234$)

Alcaloïde extrait du Genêt à balai : *Sarothamnus scoparius* Koch., Légumineuses.

Noyau du nor-lupinane.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 4.

Chloroforme ammoniacal : base huileuse volatile, un peu soluble dans l'eau, très soluble dans le chloroforme.

La base est entraînée par la vapeur d'eau.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration rouge orangé.

Réactif iodoplatinique : coloration bleue.

CHROMATOGRAPHIE

Les taches sont généralement étirées. Le R_f est difficile à déterminer.

Butanol acétique : taches allongées avec zone de coloration intense de R_f moyen $\times 100 = 58$. Début de la tache à $R_f \times 100 = 30$ ou 35.

Butanol saturé d'eau, 8 mesures : la partie importante de la tache est située à R_f moyen $\times 100 = 36$ mais l'étirement de la tache peut se faire à partir de $R_f \times 100 = 10$.

Butanol chlorhydrique : $R_f \times 100 = 86$ (M).

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. 1 h — 102 mm

Ammoniaque 10% .. 1 h 30 mn — 55 mm

STRYCHNINE ($C_{21}H_{22}N_2O_2=334$)

Alcaloïde extrait de la Noix vomique : *Strychnos nux vomica* L., de la Fève de Saint-Ignace : *Strychnos ignatii* Berg., Loganiacées.

Structure complexe rattachée au dihydroindole.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 2.

Chloroforme ammoniacal : base pratiquement insoluble dans l'eau et très soluble dans le chloroforme, très peu soluble dans l'éther.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	72,38	13	4,65	1,29
Butanol saturé d'eau ..	42 (M)			
	44,3	10	4,86	1,53
Butanol chlorhydrique...	78 (M)			
Solvant spécial étudié par MUNIER [64] pour séparer strychnine et gènestrychine (voir à <i>Génostrychnine</i> , p. 93).				

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. 1 h — 47 mm

Ammoniaque 10% .. 1 h 30 mn + 3 mm
tache résiduelle

THÉOBROMINE ($C_7H_8O_2N_4=180$)

Alcaloïde retiré des graines de Cacao : *Theobroma cacao* L., Sterculiacées.

Diméthyl 3-7, dioxy 2-6, purine.

EXTRACTION

La théobromine se comporte soit comme un acide faible, soit comme une base faible, se dissolvant dans les solutions aqueuses acides ou alcalines.

Elle est très peu soluble dans la plupart des solvants, en particulier dans l'eau à pH : 7. Les médicaments qui en renferment sont donc généralement des comprimés ou des cachets, rarement des solutions aqueuses ou des sirops.

En pratique on peut la séparer grossièrement des autres composants du médicament en traitant celui-ci par l'eau froide ou par un autre solvant dans lequel elle est peu soluble.

On peut aussi l'extraire avec difficulté de ses solutions aqueuses par le chloroforme en milieu acide, plus difficilement en milieu ammoniacal.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration rouge violacé.

Réactif iodoplatinique : pas de coloration.

Réaction de la murexide : voir aux révélateurs, p. 40.

CHROMATOGRAPHIE

La théobromine étant peu soluble dans l'eau et les solvants organiques volatils à pH=7, on doit déposer sur les chromatogrammes de grands volumes de solutions.

R_f

Butanol acétique 0,62 (M)

Butanol saturé d'eau : la tache est peu intense, diffuse et étirée.

Butanol chlorhydrique : la tache est peu intense, diffuse et étirée.

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 %	..	1 h	0
Ammoniaque 10 %	..	1 h 30 mn	+ 26 mm

THÉOPHYLLINE ($C_7H_8N_4O_2=180$)

Alcaloïde extrait du Thé : *Thea sinensis* Link., Ternstroemiacees.
Diméthyl 1-3, dioxy 2-6 purine.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 1.

Chloroforme ammoniacal : base peu soluble dans l'eau, moins soluble dans le chloroforme.

Se comporte, soit comme un acide faible, soit comme une base faible, soluble dans les acides et les alcalis dilués.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF ordinaire : pas de coloration.

On doit utiliser le réactif de DRAGENDORFF concentré : formule IV (dilution au 1/10^e) qui donne une tache rouge orangé.

Réactif iodoplatinique : pas de coloration pour une tache de 200µg.

CHROMATOGRAPHIE

	R _f moyen × 100	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	79 (M)			
	74,1	10	3,16	1
Butanol saturé d'eau ..	72,7	10	2,11	0,67
Butanol chlorhydrique...	76,7	10	1,9	0,60

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % ..	1 h	0 mm
Ammoniaque 10 % ..	1 h 30 mn	+ 55 mm

D-TUBOCURARINE ($C_{38}H_{44}O_8N_2=624$)

Alcaloïde extrait des curares de Ménispermacees, notamment de *Chondrodendron tomentosum* Ruiz et Pavon.

Noyau bisbenzyl isoquinoléine. Ammonium quaternaire.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 4.

Chloroforme ammoniacal : base soluble dans le chloroforme, mais difficile à déplacer de ses sels.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : très faible fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée.

CHROMATOGRAPHIE

	R _f moyen × 100	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	49,8	10	2,29	0,72
Butanol saturé d'eau ..	6,8	10	0,63	0,2
Butanol chlorhydrique...	71,9	10	2,88	0,91

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % ..	1 h	— 54 mm
Ammoniaque 10 % ..	1 h 30 mn	+ 18 mm

YOHIMBINE ($C_{21}H_{26}N_2O_3=354$)

Alcaloïde extrait des écorces du Yohimbé : *Pausinystalia yohimbe* K. Schum, = *Corynanthe yohimbe* K. Schum., Rubiacées.
Noyau de l'indole.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 3 ou 4.

Chloroforme ammoniacal : base très peu soluble dans l'eau et soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS :

Lumière ultraviolette : fluorescence nette jaune pâle.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration jaune orangé peu intense.

Réactif iodoplatinique : coloration violette stable mais peu intense.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	83,5	10	3,63	1,15
Butanol saturé d'eau . .	66,7	10	4,32	1,36
Butanol chlorhydrique .	93,8	10	2,15	0,68
	(tache étirée)			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% . .	1 h	— 34 mm
Ammoniaque 10% . .	1 h 30 mn	+ 7 mm
		tache résiduelle

B) ALCALOÏDES MODIFIÉS

Les substances de cette catégorie ont été, en majorité, étudiées dans les mêmes conditions que les alcaloïdes naturels, mais la détermination du R_f n'a été effectuée qu'au moyen de deux ou trois mesures. Dans la plupart des cas, elle n'est donc pas accompagnée du calcul statistique. Les chiffres ne sont donnés qu'à titre indicatif.

Enfin pour quelques substances, on a simplement effectué, comme pour les produits du chapitre II, des essais de révélation sur papier, sans chromatographie préalable. Ils ont été effectués pour des taches de 5μ l de solution à 5% dans un solvant volatil.

APOMORPHINE ($C_{17}H_{17}NO_2=267$)

L'apomorphine est obtenue par déshydratation de la morphine : substance facilement oxydable, surtout en solution. Il se produit un verdissement au contact de l'air.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 4.

Chloroforme ammoniacal : base soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : faible fluorescence bleutée.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée virant au brun verdâtre en quelques heures.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	75	10	3,58	1,13
Butanol saturé d'eau. ..	47,23	13	4,34	1,37
Butanol chlorhydrique...	90	4		

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 30 mm
Ammoniaque 10%.. ..	1 h 30 mn	tache brune mal définie.

CODÉTHYLNE (Chlorhydrate) ($C_{19}H_{23}NO_3$, ClH , $2OH_2=386$)

Chlorhydrate d'éthylmorphine, Dionine.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 3.

Chloroforme ammoniacal : base soluble dans l'eau et les solvants organiques.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

Les révélateurs de la fonction phénol ne donnent rien (différence avec la morphine).

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	71,3	10	3,57	1,13
Butanol saturé d'eau ..	62 (SABON et MONNET) [97]			
	43,8	10	3,04	0,96
Butanol chlorhydrique...	70 (SABON et MONNET) [97]			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 51 mm
Ammoniaque 10%.. ..	1 h 30 mn	0

DIAMORPHINE (Chlorhydrate) ($C_{21}H_{23}O_5N$, ClH, $OH_2=423,6$)

Chlorhydrate de diacétylmorphine, Héroïne.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 2.

Chloroforme ammoniacal : base facile à extraire par le chloroforme en milieu ammoniacal, mais dont les solutions aqueuses sont fréquemment altérées par perte d'un groupement acétyle.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatitique : coloration bleu violacé stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	74 (SALVESEN et PAULSEN) [98]			
	73,33	18	3,59	0,85
Butanol saturé d'eau ..	49,54	11	5,75	1,75
Butanol chlorhydrique...	84 (M)			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 47 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	tache diffuse.

DIHYDRONE (Chlorhydrate) ($C_{18}H_{21}NO_4$, ClH, $3OH_2=405,7$)

Dihydrohydroxycodéïnone.

Analésique du tableau B.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 4.

Chloroforme ammoniacal : base facile à extraire par le chloroforme en milieu ammoniacal.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatitique : coloration violacée.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique .. .	58 (SALVESEN et PAULSEN) [98]			
	57,82	11	2,13	0,64
Butanol saturé d'eau. ..	17	6		
Butanol chlorhydrique...	47,2	4		

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 51 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

GÉNATROPINE ($C_{17}H_{23}O_4N=305,2$)

Aminoxyde de l'atropine.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 4.

Chloroforme ammoniacal : base peu soluble à la fois dans l'eau et les solvants organiques.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	< 100			
	77,54	11	4,98	1,50
Butanol saturé d'eau . .	64 (M)			
	61,9	11	4,88	1,47
Butanol chlorhydrique...	94			

Solvant spécial étudié par MUNIER [64] pour séparer l'atropine de la génatropine : papier imprégné d'une solution de phosphate monopotassique M 5 ; solvant développant : isobutanol saturé d'eau.

R_f	{ Atropine 0,36
	{ Génatropine 0,67

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % .. 1 h — 51 mm

Ammoniaque 10 % . . 1 h 30 mn 0

GÉNÉSÉRINE ($C_{15}H_{21}N_3O_3=291,3$)

Alcaloïde retiré de la Fève de Calabar, *Physostigma venenosum* Balf., Légumineuses Papilionacées, en même temps que l'ésérine dont elle est l'aminoxyde.

Bien qu'existant à l'état naturel, nous l'avons classé ici avec les autres gènalcaloïdes.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 2.

Chloroforme ammoniacal : base peu soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée devenant gris violacé faible.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	$\times 100$			
	79,58	12	3,63	1,05
Butanol saturé d'eau. . .	89 (M)			
	89,5	10	3,37	1,07
Butanol chlorhydrique...	97,3	3		

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % .. 1 h — 51 mm

Ammoniaque 10 % . . 1 h 30 mn 0

GÉNOSCOPOLAMINE ($C_{17}H_{21}O_5N=319$)

Aminoxyde de la scopolamine.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 4.

Chloroforme ammoniacal : base très peu soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	61	11	2,75	0,83
Butanol saturé d'eau ..	24 (M)			
	28,91	11	2,3	0,69
Butanol chlorhydrique..	54,3	3		
Solvant spécial étudié par MUNIER [64] pour séparer la génoscopolamine de la scopolamine ; papier imprégné d'une solution de phosphate monopotassique M/5 ; solvant développant : isobutanol saturé d'eau.				

R_f	{	Scopolamine	0,31
	{	Génoscopolamine	0,20

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. 1 h — 51 mm

Ammoniaque 10%.. .. 1 h 30 mn 0

GÉNOSTRYCHNINE

Aminoxyde de la strychnine.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 3 ou 4.

Chloroforme ammoniacal : base soluble dans le chloroforme en milieu ammoniacal.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violette stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	77,3	10	4,18	1,3
Butanol saturé d'eau ..	68 (M)			
	69,27	11	5,16	1,56
Butanol chlorhydrique ..	89,3	3		
Solvant spécial étudié par MUNIER [64] pour séparer strychnine et génostrychnine : papier imprégné d'une solution de phosphate monopotassique M/2 ; solvant : propanol-eau (3,1).				

R_f	{	Strychnine	0,59
	{	Génostrychnine	0,74

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. 1 h — 43 mm

Ammoniaque 10% . . 1 h 30 mn 0

HOMATROPINE (bromhydrate) ($C_{16}H_{23}O_3N$. BrH=356,3)

Bromhydrate de l'ester phénylglycolique du tropanol.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 3 ou 4.

Chloroforme ammoniacal : base très soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatiniq. : coloration bleu violacé stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	69,8	10	3,01	0,95
Butanol saturé d'eau ..	35,6	10	2,41	0,72
Butanol chlorhydrique ..	76 (M)			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. 1 h — 54 mm

Ammoniaque 10% .. 1 h 30 mn — 18 mm

HYDRASTININE ($C_{11}H_{13}NO_3=207$)

Alcaloïde provenant de l'oxydation de l'hydrastine.

Noyau isoquinoléine.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 3.

Chloroforme ammoniacal : base très soluble dans le chloroforme, très peu soluble dans l'eau et l'éther de pétrole.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : belle fluorescence bleue.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration rouge orangé.

Réactif iodoplatiniq. : coloration bleu vert.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	60	3		
Butanol saturé d'eau ..	21	3		
Butanol chlorhydrique..	46 (M)			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. 1 h — 76 mm

Ammoniaque 10% .. 1 h 30 mn — 92 mm

NALORPHINE

Chlorhydrate de N-allyl normorphine.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatiniq. : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,67
Butanol saturé d'eau ..	0,57
Butanol chlorhydrique..	0,78

PHOLCODINE ($C_{23}H_{33}O_4N_2$, $H_2O = 416,5$)

(Homocodéine)

Morpholinyléthylmorphine.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 3.

Chloroforme ammoniacal : méthode d'extraction étudiée par SABON et MONNET [97] utilisant le chloroforme après avoir alcalinisé les solutions aqueuses par le carbonate acide de sodium. On peut également alcaliniser par l'ammoniaque.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé stable.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen < 100	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	29,8	10	4,31	1,36
Butanol saturé d'eau . . .	04 (SABON et MONNET)	[97]		
Butanol chlorhydrique...	17 (SABON et MONNET)	[97]		

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% 1 h — 81 mm

Ammoniaque 10% 1 h 30 mn 0

SCOPOLAMINE (Bromure de *N* Butyl)

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,80
Butanol saturé d'eau . . .	0,70
Butanol chlorhydrique...	> 0,95

DÉRIVÉS DE LA *RÉSERPINE*

Les bons résultats obtenus par l'utilisation des alcaloïdes des *Rauwolfias* dans le traitement de l'hypertension ont conduit à un examen plus approfondi des propriétés physiologiques de la *résérpine* et des substances obtenues en modifiant sa molécule. A titre d'exemple, le comportement chromatographique de deux dérivés de synthèse a été étudié.

CARBETOXYSYRINGATE DE RÉSERPATE DE MÉTHYLE.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence bleu vert.

Réactif de DRAGENDORFF ordinaire : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée faible.

CHROMATOGRAPHIE

	R _f
Butanol acétique	{ > 0,95
Butanol saturé d'eau	
Butanol chlorhydrique	

MÉTHOSERPIDINE

Méthoxy 10- déserpidine.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence jaune.

Réactif de DRAGENDORFF ordinaire : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacé peu intense.

CHROMATOGRAPHIE

	R _f
Butanol acétique	0,92
Butanol saturé d'eau ..	0,95
Butanol chlorhydrique...	>0,95

DÉRIVÉS DE LA *THÉOPHYLLINE*

La théophylline, produit d'origine naturelle, fait partie du groupe des alcaloïdes xanthiques avec la théobromine et la caféine. Ces substances possèdent un certain nombre de propriétés communes. Leur séparation chromatographique peut être réalisée au moyen de solvants spécifiques mis au point par MUNIER et MACHEBŒUF [65].

PARIS et FAUGERAS [86] utilisent l'électrophorèse à voltage élevé (10 volts cm), l'électrolyte étant une solution ammoniacale à 10⁰‰.

Il existe un grand nombre de dérivés de la théophylline. En effet, cette substance tonocardiaque, diurétique et eupnéique possède le grand inconvénient d'être peu soluble dans l'eau à pH = 7. Elle est donc difficile à utiliser par voie parentérale et les modifications apportées à sa molécule ont eu pour but de la rendre plus soluble.

D'autres dérivés synthétiques de la théophylline à molécule plus complexe sont utilisés dans le traitement du mal des transports (p. 142).

Chimiquement, la plupart de ces substances de synthèse possèdent les propriétés générales des alcaloïdes xanthiques : elles peuvent être extraites par le chloroforme en milieu acide, souvent également en milieu ammoniacal (HEGI) [38].

Ces substances doivent être révélées par le réactif de DRAGENDORFF spécial (formule n° IV) bien que certaines d'entre elles le soient également par le réactif de DRAGENDORFF ordinaire.

Le réactif iodoplatinique ne révèle que quelques-uns des dérivés de la théophylline.

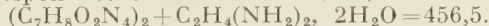
Les produits étudiés n'ont montré aucune fluorescence.

CHANDA et ses collaborateurs [10] ont cherché à utiliser le test de la murexide en chromatographie sur papier. D'après quelques essais réalisés, cette technique semble d'une utilisation délicate.

L'identification chromatographique des produits naturels et synthétiques a été réalisée par DOMANGE et FOULON (solvant développant butanol-acide acétique-eau) (travaux non publiés) et également par HEGI [38] (solvant développant butanol ammoniacal, révélateur : diazoréaction).

AMINOPHYLLINE

C'est un mélange de théophylline et d'éthylène diamine qui correspond sensiblement à la formule :



L'aminophylline peut être considérée comme un sel de théophylline.

La théophylline peut donc être caractérisée après extraction par les méthodes utilisées habituellement pour celle de la théophylline dans les préparations qui en renferment (chloroforme acide).

DIÉTAMIPHYLLINE (Camphosulfonate).

Camphosulfonate de diéthylaminoéthylthéophylline.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : tache jaune orangé.

Réactif iodoplatinique : tache bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,61
Butanol saturé d'eau ..	0,25
Butanol chlorhydrique...	0,40

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 %	1 h	—51 mm
Ammoniaque 10 %	1 h 30 mn	0

DIPROPHYLLINE ($C_{10}H_{14}O_4N_4=254$)

Dihydroxypropylthéophylline

EXTRACTION

Chloroforme acide ; catégorie 1.

Chloroforme ammoniacal : l'extraction est également possible par le chloroforme en milieu alcalin. La grande solubilité dans l'eau rend l'extraction par le chloroforme assez longue.

RÉVÉLATEURS :

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF ordinaire : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF spécial (n° IV) : coloration jaune orangé (plus jaune que celle donnée par la caféine et la théophylline).

Réactif iodoplatinique : pas de coloration même pour 5 micro-litres d'une solution à 10‰.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,65
Butanol saturé d'eau. ..	0,62 tache diffuse
Butanol chlorhydrique .	0,52

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1‰ ..	1 h	0
Ammoniaque 10‰ ..	1 h 30 mn	tache faible et diffuse

HYDROXYÉTHYLTHÉOPHYLLINE ($C_9H_{12}O_3N_4=224$)

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF ordinaire : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF spécial (n° IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : pas de coloration.

CHROMATOGRAPHIE.

	R_f
Butanol acétique	0,77
Butanol saturé d'eau. ..	0,80
Butanol chlorhydrique...	0,72

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1‰ ..	1 h	0
Ammoniaque 10‰ ..	1 h 30 mn	0

MERCUROPHYLLINE

Sel sodique de méthoxyhydroxymercuripropylamide de l'acide triméthyl cyclopentanedicarboxylique et théophylline.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : faible coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : décoloration du révélateur.

THÉOPHYLLINE-ÉTHANOATE DE DIÉTHYLDIAMINE(C₂₂H₃₀O₈N₁₀ — 562,5)

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF ordinaire : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF spécial (n° IV) : coloration rouge orangé.

Réactif iodoplatinique : coloration bleue.

CHROMATOGRAPHIE

	R _f
Butanol acétique . . .	0,18
Butanol saturé d'eau . .	0,03
Butanol chlorhydrique .	0,05

ELECTROPHORÈSE

Ammoniaque 10 % . . . 1 h 30 mn 0

D'autres dérivés de la théophylline seront étudiés p. 142.

II. EXEMPLES PRATIQUES D'ANALYSES DE MÉDICAMENTS

A) LE MÉDICAMENT CONTIENT UN SEUL ALCALOÏDE

L'extraction est faite par les méthodes indiquées précédemment (voir p. 20) mais quelques alcaloïdes ne peuvent s'extraire quantitativement dans ces conditions. Ainsi pour l'éphédrine, on ne peut évaporer les solutions organiques ni sécher les taches alcaloïdiques sur les chromatogrammes à une température élevée sans risquer des pertes importantes.

Quelques bases sont peu solubles dans le chloroforme (morphine, berbérine). Dans les tableaux des alcaloïdes les plus couramment employés, ont été signalés ceux pour lesquels il existe une difficulté d'extraction— avec les remèdes possibles.

Pour obtenir de bons résultats en chromatographie ou en électrophorèse il faut utiliser un extrait alcaloïdique aussi pur que possible. Les substances gênantes sont éliminées quand cela est possible par extraction par un solvant en milieu acide, lorsque celle-ci n'entraîne pas de perte d'alcaloïdes.

A titre d'exemple on peut signaler qu'il est facile de caractériser la morphine, l'atropine, la papavérine... etc. dans des solutés injectables, directement ou après concentration si la solution est trop diluée.

En présence d'une quantité importante de sels il est préférable d'extraire l'alcaloïde. La caractérisation de la codéine ou de la dionine dans les sirops ne présente pas de difficultés après extraction préalable.

L'atropine peut être facilement caractérisée dans des suppositoires contenant extrait de Belladone et beurre de cacao, en utilisant la méthode d'extraction classique.

L'éther de pétrole qui débarrasse des excipients permet d'enlever aussi une partie de la chlorophylle, le chloroforme acide sépare la phénacétine, l'aspirine, etc. Il est impossible de donner une liste complète de ces produits. Mais il faut se méfier des alcaloïdes qui sont extraits dans ces conditions, en raison de leur faible basicité, ou parce que leurs sels sont solubles dans le chloroforme, surtout si on emploie un grand volume de solvant. Ces propriétés particulières ont été signalées dans les tableaux précédents.

B) LE MÉDICAMENT CONTIENT PLUSIEURS ALCALOÏDES

La caractérisation de chaque alcaloïde n'est facile que lorsque le nombre de ces substances n'est pas trop grand et lorsqu'ils se trouvent à des doses comparables.

En dehors de la détermination du R_f , l'utilisation de la lumière ultraviolette et des révélateurs spécifiques donnent des indications très précieuses.

Nous donnerons ci-dessous quelques exemples empruntés à des formules courantes.

— Suppositoires de :

Chlorhydrate de codéthyline.	0,01 g
Codéine	0,02 g
Benzoate de sodium	0,10 g
Beurre de cacao Q.S. pour un suppositoire de	3 g

Elimination de l'excipient selon la technique décrite plus haut. Le résidu alcaloïdique correspondant à un suppositoire (0,028 g d'alcaloïdes) est repris par 1 ml d'éthanol-chloroforme.

Une tache de 5 μ l contient 100 μ g de codéine et 40 μ g de codéthyline. On contrôle l'exactitude des R_f par la méthode des témoins internes, on peut évaluer l'intensité des taches par rapport à des témoins renfermant les quantités théoriques de ces alcaloïdes.

— De même dans la formule suivante :

Camphosulfonate de sodium	0,25 g
Codéthyline	0,025 g
Codéine	0,025 g
Sulfogaïacolate de potassium	0,25 g
Acide benzoïque	0,125 g
Eau distillée	1,25 g
Alcool à 90°	0,25 g
Sirop de Desessartz	30 g
Sirop simple Q.S. pour	100 ml

les deux alcaloïdes sont aisément caractérisés par la méthode générale.

Une prise d'essai de 25 ml est diluée à 50 ml avec de l'eau distillée. On alcalinise par l'ammoniaque. On extrait par le chloroforme dans un perforateur.

Le résidu de distillation du chloroforme est dissous dans 0,6 ml d'éthanol-chloroforme. Une tache de 5 μ l contient 52 μ g de chaque alcaloïde qui peut être identifié et évalué quantitativement par rapport à des témoins.

Lorsque les alcaloïdes se trouvent à des doses très différentes, le problème est beaucoup plus difficile à résoudre. Les taches les plus faibles peuvent être masquées par les autres lorsque les R_f sont peu différents.

Mais, dans la plupart des cas, on peut identifier deux alcaloïdes présents dans les proportions de 1 à 10. L'extrait alcaloïdique doit être en quantité suffisante pour que l'alcaloïde qui est à la dose la plus faible soit décelable par le révélateur. Il peut arriver alors que les R_f des taches soient un peu modifiés, les témoins internes permettront de conclure.

— Premier exemple : comprimés dragéifiés de formule :

Poudre de Noix vomique		0,02 g
Protoxalate de fer		0,03 g
Arrhénal		0,01 g
Extrait mou de Quinquina		0,10 g
Kola pulvérisée		0,05 g

L'extraction est pratiquée sur 5 dragées.

L'extrait chloroformique acide contient la caféine, révélée par le réactif de DRAGENDORFF concentré (voir p. 37).

L'extrait chloroformique alcalin contient pour une dragée :

Alcaloïdes de la Noix vomique (poudre de Noix vomique à 2,5 % d'alcaloïdes).

$$\frac{0,02 \times 2,5}{100} = 0,0005$$

Alcaloïdes du Quinquina (extrait mou de Quinquina titré à 8 % d'alcaloïdes).

$$\frac{0,10 \cdot 8}{100} = 0,008$$

5 dragées contiennent donc :

Alcaloïdes de la Noix vomique :

$$0,0005 \times 5 = 0,0025 \text{ g} \quad \left\{ \begin{array}{ll} \text{Strychnine} & 0,0012 \text{ g} \\ \text{Brucine} & 0,0012 \text{ g} \end{array} \right.$$

Alcaloïdes du Quinquina :

$$0,008 \times 5 = 0,040 \text{ g}$$

On dissout l'extrait chloroformique alcalin dans 1 ml et on dépose sur le chromatogramme une tache de 10 μ l qui contient donc :

alcaloïdes de la Noix vomique 25 μ g (quantités sensiblement égales de strychnine et brucine).
alcaloïdes du Quinquina 400 μ g environ.

Sur les chromatogrammes de l'extrait alcalin on peut distinguer trois taches après pulvérisation de réactif de DRAGENDORFF :

— une tache très importante possédant une belle fluorescence bleue aux U.V. avant pulvérisation du révélateur : alcaloïdes du Quinquina ;

— une tache moins importante : la strychnine ;
 — une tache d'importance comparable à celle de la strychnine, mais donnant une coloration orangée par le révélateur à l'acide nitrique nitreux ; la brucine.

— Deuxième exemple :

Lorsque le rapport des quantités des alcaloïdes est de 1 à 100, il est parfois possible de les caractériser si les R_f sont suffisamment différents, mais on est à la limite des possibilités de la méthode.

Pour des ampoules de formule suivante :

Chlorhydrate de morphine	0,0001 g
Bromhydrate de scopolamine	0,0002 g
Sulfate de spartéine	0,020 g
Soluté physiologique Q.S. pour	1 ml

la caractérisation de la scopolamine est possible en électrophorèse sur la solution concentrée ; le volume déposé doit contenir environ 10 μ g de scopolamine et par suite 1 mg de spartéine. On pratique l'électrophorèse pendant deux heures en milieu ammoniacal à 10%. Après pulvérisation du révélateur de DRAGENDORFF on distingue trois taches :

— une très grosse tache de migration très rapide et par suite ne gênant pas : spartéine.

— deux autres taches de migration plus lente : une très petite au niveau du témoin de scopolamine ; une plus importante de même déplacement que le témoin de morphine.

Par contre, la chromatographie ne permet pas de caractériser directement la scopolamine. Il faut avoir recours à une séparation préalable sur un premier chromatogramme comme nous le décrivons plus loin.

Au cours d'autres analyses il ne nous a pas été possible de caractériser directement tous les alcaloïdes présents, soit parce que les R_f sont trop proches, soit parce que les rapports de concentration sont encore plus défavorables. Les alcaloïdes qui se trouvent en très faible quantité doivent être extraits en mettant à profit une de leurs propriétés particulières (solubilité, fonction phénol), ou bien on doit éliminer totalement ou partiellement les bases qui se trouvent en grande quantité en se servant aussi de leurs propriétés particulières.

Certains alcaloïdes : bases xanthiques, papavérine, sont extraits par le chloroforme en milieu acide.

Les alcaloïdes phénoliques restent dans l'eau alcalinisée par la soude lorsqu'on épuise cette solution par le chloroforme (morphine). La morphine et la boldine ne passent que lentement dans le chloroforme en milieu ammoniacal.

L'éphédrine est entraînable par la vapeur d'eau.

Cependant, la plupart des alcaloïdes ne se prêtent pas à ce fractionnement préalable par les solvants. On peut avoir alors recours à une méthode chromatographique pour cette première séparation. C'est le cas de la caractérisation de la pilocarpine dans les suppositoires de formule suivante :

Bromoforme		0,10	g
Terpinol		0,10	g
Sulfate de quinine		0,10	g
Camphre		0,10	g
Extrait de Belladone		0,01	g
Pilocarpine		0,002	g
Codéine		0,01	g
Butoforme		0,0075	g
Beurre de cacao Q.S. pour un suppositoire de		3	g

L'extraction des alcaloïdes totaux est faite sur 6 g de masse, soit deux suppositoires.

Une première chromatographie permettra d'identifier la quinine et la codéine.

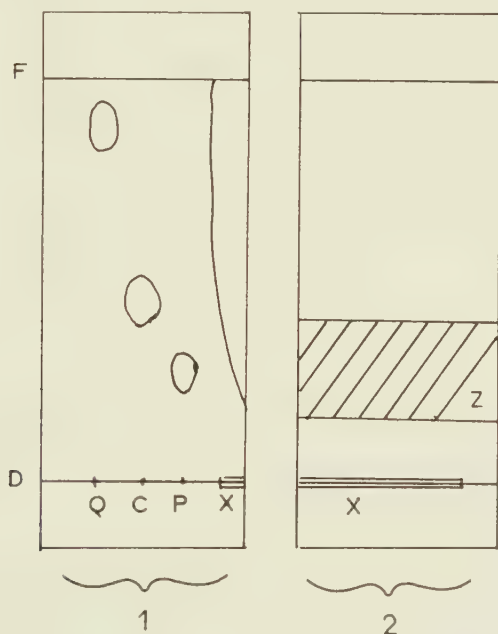


Fig. 7. — Chromatographie avec élution.

Q : tache de quinine. — C : tache de codéine. — P : tache de pilocarpine. — X : mélange à analyser. — Z : zone à éluer pour caractériser la pilocarpine. — 1 : partie révélée. — 2 : partie non révélée.

A la dose pour laquelle la pilocarpine serait visible, sa tache serait masquée par les grosses taches de quinine et de codéine, aussi bien en électrophorèse qu'en chromatographie. On utilisera la méthode suivante :

Le solvant butanol chlorhydrique sur papier imprégné de chlorure de potassium, donnant des R_f très différents pour les trois alcaloïdes c'est lui qui est choisi.

Sur le papier à chromatographie on dépose des taches des trois alcaloïdes témoins puis, sur une même ligne continue, une très forte prise d'essai de l'extrait alcaloïdique (telle qu'elle renferme au moins 100 µg de l'alcaloïde présent en faible quantité la pilocarpine).

On fait monter le solvant puis on découpe le chromatogramme comme la fig. 7 l'indique. On révèle seulement les témoins et les bords de la tache complexe donnée par X pour pouvoir localiser la zone où se trouve la pilocarpine. On découpe alors cette zone assez largement et on élue. Différentes méthodes sont utilisables : le papier sert de siphon entre deux cristallisoirs situés à des niveaux différents, ou plus simplement le papier à éluer est découpé, pour pouvoir être introduit dans une fiole conique ; on extrait les alcaloïdes en agitant avec une solution aqueuse acide, à plusieurs reprises et par petites portions, en exprimant le papier le plus possible entre deux extractions. Les solutions acides sont réunies, alcalinisées par l'ammoniaque et épuisées par le chloroforme. Cet extrait alcaloïdique est analysé à nouveau, soit par chromatographie, soit par électrophorèse. L'électrophorèse en milieu formique donne une excellente séparation des trois alcaloïdes. La tache de pilocarpine n'est plus dissimulée par celles de quinine et de codéine, ces alcaloïdes étant presque totalement éliminés.

CHAPITRE II

ANALYSE DE MÉDICAMENTS CONTENANT DES EXCIPIENTS, DES ALCALOÏDES ET DES SUBSTANCES DONNANT, SUR PAPIER LES RÉACTIONS DES ALCALOÏDES

Comme nous l'avons déjà vu, les alcaloïdes sont souvent accompagnés dans les médicaments de très nombreuses substances dont certaines peuvent présenter les mêmes réactions. Nous avons étudié un certain nombre d'entre elles, parmi les plus fréquemment rencontrées.

Pour quelques-unes, le calcul du R_f a été fait par la méthode statistique, pour d'autres les R_f indiqués sont les moyennes de deux ou trois mesures et ils sont données à titre indicatif seulement. D'autre part, le comportement en électrophorèse a été étudié

Pour beaucoup de composés, nous nous sommes bornée à un essai des révélateurs sur papier, sans utilisation de solvant développant. La réaction est indiquée comme positive lorsqu'une coloration nette est obtenue, après utilisation d'un révélateur, pour le dépôt sur un papier à chromatographie d'une goutte de 5 μ l d'une solution à 5%.

Trois révélateurs sont essayés systématiquement : les réactifs de DRAGENDORFF ordinaire et concentré (formule IV) et le réactif iodoplatinique.

Cependant cette méthode ne permet pas de savoir avec certitude ce qui se passera après chromatographie ou électrophorèse. Certaines substances qui donnent un résultat positif dans les conditions indiquées avec l'un ou plusieurs des révélateurs pourront ne donner qu'une tache diffuse ou à peine visible après développement du chromatogramme ou après passage du courant en électrophorèse.

Mais lorsque la réaction sur papier est négative, il semble impossible qu'on ait des taches après développement et révélation du chromatogramme ou de l'électrophorégramme. Nous avons signalé quelques substances très courantes qui entrent dans cette dernière catégorie. Elles ne gênent pas la caractérisation des alcaloïdes par chromatographie ou électrophorèse sauf si, par leur présence en grande quantité, elles en modifient les déplacements.

A. COMPOSÉS AZOTÉS

Ces substances, d'origine naturelle ou synthétique, ont été classées d'après leur constitution chimique, en suivant, pour la plupart d'entre elles, l'ordre du traité de Pharmacie chimique de LEBEAU et collab. [49].

I. — DÉRIVÉS AMINÉS

1) AMINÉS DE LA SÉRIE GRASSE.

A ce groupe appartiennent les ammoniums quaternaires antiseptiques.

Ils peuvent gêner l'identification des alcaloïdes, la plupart d'entre eux se colorant par les révélateurs d'alcaloïdes.

Cependant si l'identification est faite sur un extrait chloroformique ammoniacal, le risque de confusion est moins grand puisque, pour un certain nombre de ces composés, la base d'ammonium quaternaire n'est pas déplacée de ses sels par l'ammoniaque.

Ces produits sont utilisés pour leurs propriétés antiseptiques, antifongiques et émulsionnantes. Ils sont peu toxiques et peu actifs physiologiquement. Ils sont parfois mélangés aux aliments et aux médicaments pour augmenter leur conservation (collyres, gouttes).

Ce sont généralement de grosses molécules à chaînes plus ou

moins ramifiées. On les utilise sous forme de sels (chlorures, bromures, méthosulfonates...), très solubles dans l'eau.

La composition chimique de certains produits commerciaux est définie par le fabricant : ce sont souvent des mélanges de composés très voisins, différant seulement par le nombre d'atomes de carbone de la chaîne principale.

Au point de vue analytique, ils ont, en commun, la propriété de donner un complexe bleu intense avec des colorants anioniques tels que le bleu de bromophénol. Le complexe ainsi formé est soluble dans les solvants organiques et peu soluble dans l'eau.

La plupart des alcaloïdes donnent également une coloration dans ces conditions, mais les produits obtenus n'ont pas les mêmes solubilités et ils sont éliminés par lavage à l'eau du chromatogramme.

Le bleu de bromophénol est utilisé comme révélateur chromatographique des ammoniums quaternaires par GARCIA et COUERBE [32 et 33].

Les auteurs signalent qu'après révélation, il est nécessaire de laver les chromatogrammes à l'eau courante pour intensifier les taches et dissoudre l'excès de bromophénol libre ou fixé à des substances autres que les ammoniums quaternaires.

Révélation : le chromatogramme est pulvérisé avec une solution de carbonate neutre de sodium à 5%. On sèche et on pulvérise une solution à 0,02% de bleu de bromophénol.

La liste des produits commerciaux est longue. Nous nous limiterons à quelques exemples parmi les très nombreux produits utilisés surtout pour l'usage externe et spécialisés sous des noms divers. Seuls seront indiqués ici les noms communs :

BENZALKONIUM

Diméthylalcoylbenzylammonium (le radical alcoyl est compris entre C_8 et C_{18}).

Produit utilisé sous forme de sel (chlorure ou bromure).

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée.

Révélateur au bleu de bromophénol : belle coloration bleue.

CHROMATOGRAPHIE

La plupart des produits commerciaux sont des mélanges de plusieurs produits homologues. Ils donnent donc habituellement plusieurs taches en chromatographie.

Dans les trois solvants indiqués, la tache la plus importante se situe au $R_f = 0,9$.

ELECTROPHORÈSE

Comme en chromatographie, on observe plusieurs taches.

En acide formique à 1% pendant une heure, les taches importantes sont étagées entre -54 mm et -20 mm.

CÉTHEXONIUM

Cétyldiméthylcyclohexanolammonium (bromure).

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER :

Réactif de DRAGENDORFF ordinaire et concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu vert.

Réactif au bleu de bromophénol : coloration bleue.

CÉTRIMINIUM

Cétyltriméthylammonium (bromure).

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER :

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

Réactif au bleu de bromophénol : coloration bleue.

Ces substances, qui réagissent comme les alcaloïdes avec les révélateurs utilisés, ne sont généralement pas extraites par le chloroforme en milieu ammoniacal. En outre, elles forment avec le bleu de bromophénol des complexes peu solubles dans l'eau, ce qui permet de les différencier des alcaloïdes dont les combinaisons avec le colorant sont éliminées par le lavage à l'eau.

2) AMINES DE LA SÉRIE AROMATIQUE

Dans ce groupe nous avons étudié l'acide *p*-amino-benzoïque et quelques-uns de ses esters, l'acide *p*-aminosalicylique, la gallamine et l'hexamine.

ACIDE P-AMINO-BENZOÏQUE

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER :

Réactif de DRAGENDORFF dilué

Réactif de DRAGENDORFF concentré
(formule IV)

Réactif iodoplatinique

} pas de
coloration

ESTERS DE L'ACIDE P-AMINO-BENZOÏQUE

Ils possèdent des propriétés anesthésiques locales très marquées. Deux d'entre eux ont été étudiés.

BUTOFORME

p-amino-benzoate de butyle.

RÉVÉLATEURS

Réactif de DRAGENDORFF dilué : très faible coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée peu intense.

Réactif iodoplatinique : pas de coloration.

Réactif au *p*-diméthyl-amino-benzaldéhyde : coloration jaune intense.

CHROMATOGRAPHIE

Butanol acétique > 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique % . . . 1 h

— 30 mm

ÉTHIOFORME

p-aminobenzoate d'éthyle.

RÉVÉLATEURS

Réactif de DRAGENDORFF dilué : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée peu intense.

Réactif iodoplatitique : pas de coloration.

Réactif au *p*-diméthylaminobenzaldéhyde : coloration jaune intense.

CHROMATOGRAPHIE

Butanol acétique... 0,95

Butanol saturé d'eau... 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1^o₀ .. 1 h — 31 mm

ORTHOFORME

m-amino-*p*-oxybenzoate de méthyle.

Cette substance, dérivée de l'acide *m*-amino benzoïque, possède, comme les précédentes, des propriétés anesthésiques locales.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Aucun des trois révélateurs de DRAGENDORFF dilué ou concentré (formule IV), ou iodoplatitique ne donne de coloration.

La révélation est possible par le réactif au *p*-diméthylaminobenzaldéhyde (coloration jaune).

P.A.S.

Acide para-amino salicylique et ses sels minéraux.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué

Réactif de DRAGENDORFF concentré
(formule IV)

Réactif iodoplatitique

} pas de
coloration

Le pasiniazide, dérivé du P.A.S. et de l'isoniazide sera étudié p. 123.

GALLAMINE (Triiodoéthylate de)

Triiodoéthylate de tridiéthylaminoéthoxybenzène.

RÉVÉLATEURS

Réactif de DRAGENDORFF dilué et concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatitique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

Butanol acétique .. Tache allongée 0,15 à 0,35.

Butanol saturé d'eau .. 0

Butanol chlorhydrique... 0,05

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1^o₀ .. 1 h — 100 mm

Ammoniaque 10^o₀.. .. 1 h 30 mn — 82 mm
tache un peu allongée

HEXAMINE

Hexaméthylène tétramine.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER :

Réactifs de DRAGENDORFF ordinaire et concentré (formule IV) : pas de coloration.

Réactif iodoplatitique : tache rouge violacée peu intense apparaissant après une demi-heure ou une heure.

A l'exception de la gallamine, les dérivés aromatiques ne réagissent donc pas ou faiblement avec les révélateurs à l'iodobismuthate ou à l'iodoplatinate de potassium. Avec le réactif au *p*-diméthylaminobenzaldéhyde, la plupart d'entre eux donnent des colorations jaunes très différentes de celles présentées par les alcaloïdes indoliques qui sont bleu verdâtre ou violacées et n'apparaissent pas dans les conditions où ce révélateur est utilisé pour les anesthésiques locaux de synthèse et les sulfamides (voir p. 39).

II. — AMINOALCOOLS ET DÉRIVÉS

Un certain nombre d'anesthésiques locaux de synthèse sont des esters d'aminoolcools. Quelques-uns d'entre eux sont d'une utilisation très courante en association avec des alcaloïdes.

Dans le même groupe chimique se trouvent la choline et ses dérivés très utilisés dans les traitements de l'hypertension.

1) ANESTHÉSQUES LOCAUX DE SYNTHÈSE.

Baucoup d'anesthésiques locaux de synthèse possèdent des propriétés physiques et chimiques très voisines de celles des alcaloïdes, en particulier en ce qui concerne leurs solubilités, leurs réactifs de précipitation et leurs révélateurs.

L'analyse de médicaments qui en renferment peut donc se faire dans les mêmes conditions que lorsqu'il s'agit d'alcaloïdes, tant pour l'extraction que pour la chromatographie et l'électrophorèse sur papier.

On doit tout de même remarquer que les bases d'anesthésiques locaux de synthèse sont, pour la plupart, très volatiles. Un séjour à l'étuve à 90° pendant 3 ou 4 heures fait presque complètement disparaître la base d'amyléine d'un extrait chloroformique alcalin. Le déficit est moins important, mais non négligeable à la température du laboratoire.

Ces problèmes d'extraction ont été étudiés par différents auteurs dans le but surtout d'avoir des solutions suffisamment pures pour pouvoir effectuer des dosages volumétriques, colorimétriques ou pondéraux.

Citons en particulier les travaux de CASTEL et ATISSO [8], de DELTOMBE et LEBOUTTE [16], de GÉLÉBART [34], de LAPIÈRE et LAURANT-ROUBY [48].

L'identification par chromatographie sur papier des anesthésiques locaux de synthèse a fait l'objet de travaux de THOMAS et ROLAND [107].

Ces auteurs ont étudié les déplacements d'une dizaine d'entre eux sur papier imprégné d'une solution de phosphate acide de potassium, par la méthode descendante, avec le butanol saturé d'eau.

JAMINET [39] obtient un très bon étagement des R_f en utilisant le solvant :

Isobutanol	85 ml
Acide chlorhydrique concentré	15 ml
Eau Q.S. pour saturer.	

que nous utilisons accessoirement.

ANESTHÉSQUES LOCAUX ÉTUDIÉS :

(substances les plus courantes)

AMYLÉINE (Chlorhydrate) ($C_{14}H_{21}NO_2$, $ClH=272$)

Chlorhydrate de méthyléthyl-diméthylaminométhylbenzoylcarbinol.

EXTRACTION

En milieu acide : catégorie 2.

En milieu alcalin : base facile à extraire, mais très volatile.

Entraînable à la vapeur d'eau. Ne pas chauffer les solutions chloroformiques.

RÉVÉLATEURS :

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

Réactif au *p*-diméthylaminobenzaldéhyde : pas de coloration.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	84,5	10	2,07	0,65
Butanol saturé d'eau ..	79,2	10	4,56	1,44
Butanol chlorhydrique...	> 95			
Isobutanol chlorhydrique	96 (JAMINET [39]).			

ÉLECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % ..	1 h	— 55 mm les taches disparaissent
Ammoniaque 10 % ..	1 h 30 mn	

BUTACAÏNE (*Sulfate*) ($C_{18}H_{30}O_2N_2=306$)Sulfate de *p*-aminobenzoyldibutylaminopropanol.**EXTRACTION**

Soluble dans l'eau, l'éthanol et le chloroforme.

Insoluble dans l'éther de pétrole et le benzène.

Chloroforme acide : catégorie 2.

Chloroforme ammoniacal : base soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : faible fluorescence jaunâtre.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée stable.

Réactif au *p*-diméthylaminobenzaldéhyde : coloration jaune d'or stable.**CHROMATOGRAPHIE**

	R_f moyen < 100	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	90,2	10	3,23	1,02
Butanol saturé d'eau ..	87	10	1,86	0,59
Butanol chlorhydrique .	>95			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % ..	1 h	— 54 mm
Ammoniaque 10 % ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

PARÉTHOXYCAÏNE (*Chlorhydrate*) ($C_{15}H_{23}O_3N, ClH=302$)

Chlorhydrate d'éthoxybenzoyldiéthylaminoéthanol.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

Réactif au *p*-diméthylaminobenzaldéhyde : pas de coloration.**CHROMATOGRAPHIE**

	R_f
Butanol acétique	0,84
Butanol saturé d'eau. ..	0,82
Butanol chlorhydrique...	0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % ..	1 h	— 48 mm
Ammoniaque 10 % . ..	1 h 30 mn	tache diffuse

PROCAÏNE (Chlorhydrate) ($C_{13}H_{20}O_2N_2$, ClH = 273)

Chlorhydrate de *p*-aminobenzoyldiéthylaminoéthanol.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 4.

Chloroforme ammoniacal : base soluble dans le chloroforme, non volatile.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : faible fluorescence jaunâtre.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

Réactif au *p*-diméthylaminobenzaldéhyde : coloration jaune d'or.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen < 100	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	66,6	10	2,84	0,89
Butanol saturé d'eau. ..	34,4	10	2,01	0,64
Butanol chlorhydrique...	75	3		
Isobutanol chlorhydrique	21 (JAMINET [39])			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% 1 h — 63 mm

Ammoniaque 10% 1 h 30 mn — 4 mm

TÉTACAÏNE (Chlorhydrate) ($C_{15}H_{24}O_2N_2$, ClH = 301)

Chlorhydrate de *p*-butylaminobenzoyldiméthylaminoéthanol.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 3.

Chloroforme ammoniacal : base soluble dans le chloroforme, non volatile.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

Réactif au *p*-diméthylaminobenzaldéhyde : très faible coloration jaune.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	86	6		
Butanol saturé d'eau	78,8	10	4,54	1,44
Butanol chlorhydrique.. ..	> 95			
Isobutanol chlorhydrique	54 (JAMINET [39])			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% 1 h — 57 mm

Ammoniaque 10% 1 h 30 mn tache diffuse

D'autres anesthésiques locaux de synthèse appartenant à des groupes chimiques différents sont étudiés p. 107-108, 117, 131.

Nous avons examiné ici un composé de formule chimique voisine des produits précédents, mais à propriétés antispasmodiques.

ADIPHÉNINE (Chlorhydrate)

Chlorhydrate de l'ester diaminoéthylrique de l'acide diphenyl-acétique.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

En conclusion, les substances étudiées réagissent avec l'iodobismuthate et l'iodoplatinate de potassium comme les alcaloïdes. Il faut en être averti lorsqu'on analyse un médicament renfermant les deux catégories de substances. Le R_f de ces aminoalcools est généralement élevé dans les solvants utilisés.

2) CHOLINE ET SES DÉRIVÉS

CHOLINE

Hydroxyde de triméthylhydroxyéthylammonium.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration rouge violacé apparaissant après quelques minutes.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé apparaissant après quelques minutes.

CHROMATOGRAPHIE	R_f
Butanol acétique	0,29 (M)
Butanol saturé d'eau ..	0,04
Butanol chlorhydrique...	0,07 (M)

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. 1 h — 100 mm

Ammoniaque 10%. En 1 h. 30 mn. la choline a parcouru tout l'électrophorégramme. Il est donc nécessaire de diminuer la durée ou de se servir d'un appareil permettant d'utiliser des feuilles plus longues.

En 1 h la choline s'est déplacée de — 72 mm.

ACÉTYLCHOLINE (Chlorure)

Chlorure de triméthylacétoxyéthylammonium.

RÉVÉLATEURS

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE	R_f
Butanol acétique	0,4
Butanol saturé d'eau. ..	0,06
Butanol chlorhydrique...	0,08 (M)

MÉTHYL ACÉTYL CHOLINE (Bromure)

Bromure d'acétylméthylcholine.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatiniq.ue : coloration gris violacé non instantanée.

CHROMATOGRAPHIE

	R _f moyen
Butanol acétique	0,5
Butanol saturé d'eau ..	0,1
Butanol chlorhydrique...	0,18

La bétaine a été rapprochée des produits précédents à cause de sa similitude chimique avec eux.

BETAINÉ

Anhydride interne du triméthylglycine. Produit d'oxydation de la choline.

RÉVÉLATEURS

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration jaune orangé.

Réactif iodoplatiniq.ue : coloration gris bleuté.

CHROMATOGRAPHIE

	R _f
Butanol acétique	0,3
Butanol saturé d'eau ..	0,05
Butanol chlorhydrique...	0,1

III. — AMINOPHÉNOLS ET AMINO-ALCOOLS-PHÉNOLS

Deux alcaloïdes appartenant à ce groupe ont déjà été vus, ce sont l'hordénine p. 79 et l'éphédrine p. 77.

L'adrénaline est d'un emploi très difficile en association médicamenteuse à cause de son instabilité chimique. Quelques succédanés stables seront étudiés.

Un autre produit de synthèse : l'amphétamine est également examiné ici.

ADRÉNALINE

Dioxyphénylméthylaminoéthanol.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER :

Difficile à effectuer en raison de la faible solubilité de l'adrénaline dans la plupart des solvants.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : très faible tache jaune citron.

Réactif iodoplatiniq.ue : pas de coloration.

ADRÉNOCHROME (Monosemicarbamate)

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Les réactifs de DRAGENDORFF dilué ou concentré (formule IV) et le réactif iodoplatinique ne changent pas la coloration jaune très intense propre à l'adrénochrome.

AMPHÉTAMINE

Phénylaminopropane.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration gris bleuté.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,77
Butanol saturé d'eau. ..	0,62.

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % .. 1 h — 68 mm

NÉOSYNÉPHRINE

Hydroxyphénylméthylaminoéthanol.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : décoloration du révélateur.

Réactif iodoplatinique : très faible coloration rose.

NOR-ADRÉNALINE

Aminodihydroxyphényléthanol.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué	}	décoloration des révélateurs
Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV)		
Réactif iodoplatinique		

TYRAMINE

p-hydroxyphényléthylamine.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER :

Aucun des trois révélateurs : réactifs de DRAGENDORFF dilué ou concentré (formule IV) et iodoplatinique ne donne de coloration.

Les substances essayées ne gênent pratiquement pas la caractérisation des alcaloïdes.

IV. — AMINOACIDES

Parmi la longue liste des amino-acides, nous en avons retenu trois fréquemment utilisés en associations médicamenteuses, parfois avec des alcaloïdes.

La bétaine, qui peut être considérée comme un dérivé de la glycine a été étudiée à côté de la choline p. 114.

Des essais de révélation directe sur papier ont été effectués avec les trois révélateurs :

Réactif de DRAGENDORFF dilué.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV).

Réactif iodoplatinique.

Aucun d'entre eux n'a donné de coloration avec les produits suivants :

CYSTÉINE : acide aminothioproprionique.

MÉTHIONINE : acide aminométhylthiolbutyrique.

TYROSINE : *p*-hydroxyphénylalanine.

V. — AMIDES

Les dérivés amidés ont des propriétés pharmaceutiques très variées.

Dans la série aromatique, on rencontre des analgésiques, dans la série des uréthanes des tranquillisants, des parasymphicomimétiques.

Les barbituriques méritent d'être étudiés parce que très souvent associés à des alcaloïdes. Bien qu'ils n'apparaissent pas par les révélateurs généraux de ceux-ci, dans les conditions indiquées plus haut, leur présence en grande quantité peut gêner la chromatographie et l'électrophorèse.

Les dérivés de l'hydantoïne sont utilisés dans le traitement de l'épilepsie.

Enfin la galépine, produit hypoglycémiant d'origine naturelle, est un dérivé de la guanidine parfois rattaché aux alcaloïdes.

1) SÉRIE AROMATIQUE.

ACÉTANILIDE

Phénylacétamide.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué	}	pas de coloration
Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV)		
Réactif iodoplatinique		

EXALGINE

Méthyl acétanilide.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : tache orangée très faible.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : tache orangée noircissant en quelques jours.

Réactif iodoplatinique : tache jaune peu intense et non instantanée.

LIGNOCAÏNE (*Chlorhydrate*) ($C_{14}H_{22}ON_2$, ClH, $OH_2=289$)

Chlorhydrate de diéthylaminodiméthylacétanilide.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu clair.

Réactif au paradiméthylaminobenzaldéhyde : pas de coloration.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique . . .	0,83
Butanol saturé d'eau . .	0,83
Butanol chlorhydrique .	> 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % . .	1 h	— 54 mm
Ammoniaque 10 % . .	1 h 30 mn	— 2 mm

ACÉTAMINOSALOLAcétyl-*p*-aminosalol.**ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER**

Réactif de DRAGENDORFF dilué	}	pas de coloration
Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV)		
Réactif iodoplatinique		

CAPSAÏCINE ($C_{18}H_{27}NO_3$)Amide rubéfiant extrait des Piments : *Capsicum annuum* L., *C. fastigiatum* Bl., *C. frutescens* L., Solanacées.**RÉVÉLATEURS**

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : pas de coloration.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique . . .	> 0,95
Butanol saturé d'eau . .	0,95
Butanol chlorhydrique...	> 0,95

PHÉNACÉTINE

p-éthoxyacétanilide.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : tache très faible et non instantanée.

Réactif iodoplatinique : pas de coloration.

2) DÉRIVÉS DE L'URÉTHANE

NÉOSTIGMINE

Méthylsulfate de l'ester diméthylcarbonique du triméthylhydroxyphénylammonium.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

Médicaments tranquillisants dérivés de l'uréthane :

Des essais de révélation directe sur papier ont été effectués. Aucun des produits ci-dessous n'a donné de coloration avec les trois révélateurs d'alcaloïdes. Ont été étudiés :

— le *PROCALMADIOL*

Dicarbamate de méthylpropylpropane.

— le *MÉTHYLPENTYNOL*

Carbamate de méthylpentynol.

— l'*HEXAPROPYMAT*

Carbamate de propynylcyclohexanol.

— le *CARBAMATE DE PHÉNYL ÉTHYL CARBINOL*

Rappelons que le comportement chromatographique, ainsi que les méthodes d'extraction de plusieurs de ces produits ont été étudiés par VIALA et MONNET [111].

3) DÉRIVÉS DE L'URÉE. BARBITURIQUES

Des essais de révélation directe sur papier ont été effectués pour le *Barbital* (diéthylmalonylurée) et pour le *Phénobarbital* (phényléthylmalonylurée).

Aucun des trois révélateurs d'alcaloïdes (réactifs de DRAGENDORFF dilué ou concentré, réactif iodoplatinique) n'a donné de coloration.

Le *Penthiobarbital* (éthylbutylthiomalonylurée) décolore plus ou moins ces trois révélateurs.

Le radical malonylurée ne forme donc pas de dérivés se révélant par les réactifs d'alcaloïdes sauf si une chaîne latérale apporte elle-même cette propriété.

La *Phénacémide* ou phénylacétylurée ne donne pas de coloration avec les révélateurs cités plus haut.

4) DÉRIVÉS DE L'HYDANTOÏNE.

L'un d'entre eux sera étudié, p. 123.

PHÉNYTOÏNE

Diphénylhydantoïne.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER.

Aucun des trois révélateurs d'alcaloïdes (réactifs de DRAGENDORFF dilué ou concentré (formule IV), réactif iodoplatinique) n'a donné de coloration.

5) DÉRIVÉS DE LA GUANIDINE

GALEGINE ($C_6H_{13}N_3$)

Substance extraite du *Galega officinalis* L., Légumineuses.
Isoamylèneguanidine.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

Dans les produits divers étudiés dans le groupe des amides, la galegine se comporte comme les alcaloïdes, auxquels on la rattache d'ailleurs fréquemment. L'acétanilide ne donne pas de coloration avec les révélateurs habituels mais ses dérivés (exalgine - lignocaïne) réagissent nettement. Il en est de même de la capsacéine. Parmi les dérivés de l'uréthane essayés, seule la néostigmine se colore nettement. Les barbituriques ne donnent pas de coloration.

VI. — SULFONAMIDES

Ont été étudiés ici quelques sulfonamides utilisés comme médicaments soit pour leur pouvoir antibiotique, soit pour leurs propriétés hypoglycémiantes.

Ils sont rarement mélangés à des alcaloïdes, mais quelques-uns d'entre eux peuvent cependant en gêner l'identification par chromatographie ou électrophorèse. En particulier le réactif de DRAGENDORFF (formule IV) donne des colorations très nettes avec plusieurs d'entre eux.

GLYBUTAMIDE

Sulfanilbutylcarbamide.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : pas de coloration.

PHENBUTAMIDE

Benzènesulfonylbutylurée.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué	}	pas de coloration
Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV)		
Réactif iodoplatinique		

SULFADIAZINE

Aminophénylsulfamidopyrimidine.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée très faible.
 Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée nette.
 Réactif iodoplatinique : coloration brunâtre.

*SULFADIMÉRAZINE**p*-aminophénylsulfamidodiméthylpyrimidine.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée nette.
 Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.
 Réactif iodoplatinique : coloration brunâtre.

*SULFAGUANIDINE**p*-aminophénylsulfonylguanidine.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : pas de coloration.
 Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration jaune très faible.
 Réactif iodoplatinique : pas de coloration.

*SULFAMÉRAZINE.**p*-aminophénylsulfamidométhylpyrimidine.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : pas de coloration.
 Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.
 Réactif iodoplatinique : pas de coloration.

*SULFAMÉTHIZOL**p*-aminophénylsulfamidométhylthiodiazol.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : pas de coloration.
 Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.
 Réactif iodoplatinique : coloration jaunâtre.

*SULFAMÉTHOXYPYRIDAZINE**p*-aminobenzènesulfamidométhoxypyridazine.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule UV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration jaunâtre.

*SULFANILAMIDE**p*-aminophénylsulfamide.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué

Réactif de DRAGENDORFF concentré
(formule IV)

Réactif iodoplatinique

pas de
coloration*SULFAPYRIDINE**p*-aminophénylsulfamidopyridine.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration brunâtre faible.

*SULFATHIAZOL**p*-aminophénylsulfamidothiazol.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée très faible.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration brunâtre faible.

TOLGLYBUTAMIDE

Tolylsulfonylbutylcarbamide.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée très faible.

Réactif iodoplatinique : pas de coloration.

Ces produits ne se colorent donc que par le réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) et souvent faiblement. En outre, la plupart d'entre eux donnent des colorations d'un jaune très intense par le révélateur au *p*-diméthylaminobenzaldéhyde.

VII. — IMIDES

Groupe chimique peu important au point de vue thérapeutique, on y rencontre la saccharine et ses succédanés utilisés comme édulcorants dans les médicaments destinés aux diabétiques.

SACCHARINE

Sulfimidebenzoïque.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué	}	pas de coloration
Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV)		
Réactif iodoplatinique		

VIII. — HYDRAZINES ET HYDRAZIDES

La plupart de ces produits sont utilisés dans le traitement de la tuberculose. Les associations médicamenteuses avec les alcaloïdes sont rares.

IPRONIAZIDE

Isonicotinylisopropylhydrazine.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.
Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.
Réactif iodoplatinique : coloration bleu foncé.

ISONIAZIDE

Hydrazide de l'acide isonicotinique.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.
Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.
Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.
Réactif iodoplatinique : coloration gris brun.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,75
Butanol saturé d'eau ..	0,65

NIALAMIDE

Benzylcarbamoylhydrazide de l'acide isonicotinique.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.
Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.
Réactif iodoplatinique : coloration brune.

PASINIAZIDE

p-aminosalicylate d'isonicotylhydrazide.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : faible coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration rouge orangé.

Réactif iodoplatinique : coloration violet noir.

ÉTHIONIAMIDE (*rapproché des produits précédents en raison de son emploi analogue en thérapeutique*).

Thioamide de l'acide éthylisonicotinique.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration brune.

PHÉNICARBAZIDE

Phénylsemicarbazide.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué

Réactif de DRAGENDORFF concentré
(formule IV)

Réactif iodoplatinique

} pas de
coloration

Plusieurs de ces dérivés réagissent donc sur papier avec les révélateurs des alcaloïdes.

IX. — COMPOSÉS A NOYAU HÉTÉROCYCLIQUE AZOTÉ

Les composés hétérocycliques azotés fournissent des médicaments très variés par leur utilisation. Ils ont été classés d'après leur constitution chimique.

1) DÉRIVÉS DU FURANNE.**NITROFURFURYLIDÈNE-AMINOHYDANTOÏNE**

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : très faible coloration jaune verdâtre.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : très faible coloration verdâtre.

Réactif iodoplatinique : pas de coloration.

2) DÉRIVÉS DE L'AZOLE

ANTIPYRINE et ses dérivés

Dans les préparations médicamenteuses l'antipyrine ou le pyramidon sont très souvent mélangés à des alcaloïdes. Les rapports des concentrations sont parfois d'une partie d'alcaloïde pour 100 et parfois beaucoup plus d'antipyrine et de pyramidon. D'autre part ces substances sont révélées par les réactifs des alcaloïdes dont elles gênent donc beaucoup l'identification.

S'il y a une partie d'alcaloïde pour 10 d'antipyrine ou de pyramidon, il sera possible de caractériser directement l'alcaloïde sans séparation préalable à condition que les déplacements en chromatographie ou en électrophorèse soient assez différents pour que la grosse tache ne dissimule pas la plus petite.

Lorsque les proportions sont plus défavorables, il est possible d'éliminer une partie ou la totalité de l'antipyrine et du pyramidon par une première extraction par le chloroforme en milieu acide, mais cette opération est longue, en particulier pour l'antipyrine à cause de sa grande solubilité dans l'eau. Elle n'est pas applicable en présence de tous les alcaloïdes, certains, nous l'avons vu plus haut, étant solubles dans le chloroforme en milieu acide (bases xanthiques - papavérine). D'autres, quoique beaucoup moins solubles, sont entraînés par une extraction prolongée.

On peut également dissoudre l'extrait chloroformique alcalin dans une très petite quantité de chloroforme et laver cette solution par de l'eau ammoniacale à plusieurs reprises, méthode non utilisable lorsque la base d'alcaloïde est soluble dans l'eau.

Lorsque les méthodes précédentes n'ont pas donné de bons résultats, il est possible de se servir de la technique décrite p. 103, par élution de taches. Bien que cette méthode soit longue, elle semble d'une application assez générale. Elle sera d'autant plus facile à utiliser qu'on dispose, en chromatographie ou en électrophorèse, d'une méthode qui donne un plus grand écart entre les déplacements des substances.

ANTIPYRINE ($C_{11}H_{12}N_2O = 188,2$)

Phényldiméthylisopyrazolone.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 1.

Chloroforme ammoniacal : substance pouvant être extraite par le chloroforme en milieu ammoniacal.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée. Même sensibilité que pour les alcaloïdes classiques.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée.

Réactif au *p*-diméthylaminobenzaldéhyde : coloration rose apparaissant après une demi-heure environ et se renforçant.**CHROMATOGRAPHIE**

	R_f moyen $\times 100$	Nombre de mesures	Ecart type	Ecart de la moyenne
Butanol acétique	90,6	11	2,29	0,69
Butanol saturé d'eau ..	95,5	10	1,43	0,46
Butanol chlorhydrique...	95			

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. . 1 h — 8 mm

Ammoniaque 10%.. .. 1 h 30 mn 0

AMIDOPYRINE ($C_{13}H_{17}N_3O = 231,3$)

Diméthylaminophényldiméthylpyrazolone.

Pyramidon.

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 2.

Chloroforme ammoniacal : substance pouvant être extraite par le chloroforme en milieu ammoniacal.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,77
Butanol saturé d'eau ..	0,90
Butanol chlorhydrique...	>0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. . 1 h — 59 mm

Ammoniaque 10% . . . 1 h 30 mn 0

PHENYLBUTAZONE

Dioxodiphénylbutylpyrazolidine.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué

Réactif de DRAGENDORFF concentré
(formule IV)

Réactif iodoplatinique

pas de
coloration

HISTAMINE

Imidazoléthylamine.

RÉVÉLATEURS

Réactif de DRAGENDORFF dilué : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration rouge orangé.

Réactif iodoplatinique : coloration bleue.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique . . .	0,12
Butanol saturé d'eau . .	0,05

LYSIDINE

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué et concentré (formule IV) : coloration rouge orangé.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

NAPHTHAZOLINE (Nitrate)

Nitrate de naphtylméthylimidazoline.

RÉVÉLATEURS

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique . . .	0,79
Butanol saturé d'eau . .	0,70
Butanol chlorhydrique...	> 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % . .	1 h	— 54 mm
Ammoniaque 10 % . .	1 h 30 mn	— 32 mm

PENTÉTRAZOL

Pentaméthylènetétrazole.

RÉVÉLATEURS

Réactif de DRAGENDORFF dilué : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration jaune.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique . . .	0,90
Butanol saturé d'eau . .	0,90
Butanol chlorhydrique..	0,95

POLYVIDONE

Polivinylypyrrolidone

RÉVÉLATEURS

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration gris violacé.

CHROMATOGRAPHIE

Butanol acétique : tache allongée à partir de la ligne de départ jusqu'à $R_f=0,5$ environ.

Butanol saturé d'eau : tache allongée à partir de la ligne de départ jusqu'à $R_f=0,2$ environ.

Butanol chlorhydrique : tache très allongée à partir de la ligne de départ.

TOLAZOLINE

Benzylimidazoline.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration rouge orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu vert.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,72
Butanol saturé d'eau. . .	0,48
Butanol chlorhydrique..	0,90

Comme nous l'avons dit précédemment, tous ces dérivés de l'azole sont parmi les substances qui peuvent gêner le plus la caractérisation des alcaloïdes, nous avons indiqué les moyens d'y remédier.

3) DÉRIVÉS DE L'AZINE

PYRIDINE

Elle se révèle par les réactifs des alcaloïdes, mais étant donné sa volatilité il est rare qu'elle gêne car elle est facilement éliminée par chauffage.

CHROMATOGRAPHIE

Butanol chlorhydrique... 0,17 (M)

NICÉTHAMIDE

Diéthylamide de l'acide pyridinecarboxylique.

Diéthylamide nicotinique.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée, même sensibilité que pour les alcaloïdes classiques.

Réactif iodoplatinique : coloration gris verdâtre.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,95
Butanol saturé d'eau. ..	>0,95
Butanol chlorhydrique...	>0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 51 mm
Ammoniaque 10%.. ..	1 h 30 mn	0

PÉTHIDINE (Chlorhydrate)

Chlorhydrate de l'éthoxycarbamylméthylphénylpéthidine.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f	
Butanol acétique	0,85	(SALVESEN et PAULSEN [98])
Butanol saturé d'eau ..	0,80	
Butanol chlorhydrique...	>0,95	

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 55 mm
Ammoniaque 10%.. ..	1 h 30 mn	0

PIPÉRAZINE ($C_4H_{10}N_2=86,1$).

RÉVÉLATEURS

Réactif de DRAGENDORFF dilué : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration rouge violacé.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu noir.

CHROMATOGRAPHIE

Butanol acétique	0,28
------------------------	------

PYRIMÉTHAMINE

Diaminochlorophényléthylpyrimidine.

RÉVÉLATEURS

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,88
Butanol saturé d'eau ..	0,87
Butanol chlorhydrique...	> 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. 1 h — 38 mm

Les dérivés de ce groupe gênent donc également la caractérisation des alcaloïdes.

4) DÉRIVÉS DE L'OXAZINE

MORPHOLINE

Tétrahydroparoxazine.

Produit utilisé comme excipient.

EXTRACTION

Substance très soluble dans l'eau, ne pouvant être extraite de ses solutions par le chloroforme, ni en milieu acide, ni en milieu ammoniacal.

RÉVÉLATEURS

Réactif de DRAGENDORFF dilué : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration rouge.

Réactif iodoplatinique : coloration gris bleuté.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,40
Butanol saturé d'eau ..	0,03

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% .. 1 h — 100 mm

Ammoniaque 10%.. .. 1 h 30 mn 0

PYRROLAMIDOL = DEXTROMORAMIDE

Diphénylméthylmorpholinobutyrylpyrrolidine dextrogyre.
 Analésique du tableau B.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.
 Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.
 Réactif iodoplatinique : coloration violacée.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,93
Butanol saturé d'eau. ..	0,98
Butanol chlorhydrique...	>0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 38 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

5) DÉRIVÉS DE LA QUINOLÉINE

OXYQUINOL

Sulfate neutre d'hydroxyquinoléine.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence jaune sale.
 Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée (les taches noircissent en quelques jours).
 Réactif iodoplatinique : coloration bleu foncé.
 Réactif au chlorure ferrique : belle coloration verte.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,73
Butanol saturé d'eau. ..	0,95
Butanol chlorhydrique...	0,85

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 72 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

CHLOROQUINE

Sulfate de diéthylaminométhylbutylaminochloroquinoléine monohydraté.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence bleue.
 Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.
 Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,65
Butanol saturé d'eau ..	0,16
Butanol chlorhydrique...	>0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 79 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

HYDROXYCHLOROQUINE (Sulfate)

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence bleue.
 Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.
 Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique . . .	0,61
Butanol saturé d'eau ...	0,11
Butanol chlorhydrique...	0,91

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 %	..	1 h	— 78 mm
Ammoniaque 10 %	..	1 h 30 mn	tache résiduelle

CINCHOPHÈNE.

Acide phénylquinoléinecarboxylique.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration rouge orangé fugace.
 Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.
 Réactif iodoplatinique : coloration violacée fugace.

DIBUCAÏNE (Chlorhydrate) ($C_{20}H_{29}O_2N_3$, $ClH=380$)

Chlorhydrate de diéthylaminoéthylamide de l'acide butyloxy-cinchoninique.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.
 Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.
 Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.
 Réactif au *p*-diméthylaminobenzaldéhyde : pas de coloration.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique . . .	0,92
Butanol saturé d'eau ..	0,94
Butanol chlorhydrique...	> 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 %	..	1 h	— 48 mm
Ammoniaque 10 %	..	1 h 30 mn	tache diffuse et tache résiduelle

Tous ces composés, bien que peu fréquemment mélangés à des alcaloïdes (à l'exception de l'oxyquinoléine) peuvent en gêner l'identification.

6) DÉRIVÉS DE LA PHÉNOTHIAZINE

L'utilisation très courante des médicaments tranquillisants a provoqué l'apparition d'un grand nombre de dérivés de la phénothiazine.

La phénothiazine ou dibenzoparathiazine est elle-même utilisée depuis longtemps pour ses propriétés anthelminthiques. Parmi les antihistaminiques, la prométhazine est un dérivé de la phénothiazine. La plupart de ces substances possèdent une action secondaire sédative et tranquillisante qui a ensuite été recherchée pour elle-même. Actuellement l'industrie pharmaceutique fabrique constamment de nouveaux produits de cette série.

Un autre groupe de ces dérivés est utilisé contre l'agitation des parkinsoniens.

Ces produits azotés et soufrés présentent de nombreuses réactions communes avec les alcaloïdes. Ils sont précipités de leurs solutions par les réactifs généraux des alcaloïdes. Ils sont extraits, comme eux, par l'éther ou le chloroforme en milieu alcalin. Quelques-uns sont solubles dans le chloroforme en milieu acide. Cependant leur extraction est rendue parfois difficile par la fragilité de la molécule. Les solutions aqueuses sont altérables à l'air et à la lumière en prenant des colorations variables correspondant à une décomposition.

En chromatographie et en électrophorèse les taches sont révélées par les réactifs iodobismuthiques et iodoplatinique, avec des limites de sensibilité comparables à celle des alcaloïdes. Le révélateur de DRAGENDORFF utilisé pour les alcaloïdes vrais donne avec les dérivés de la phénothiazine des taches orangées de même couleur que celles des alcaloïdes. Avec le révélateur iodoplatinique les taches sont bleu violacé.

Nous avons étudié le comportement d'un certain nombre de dérivés de la phénothiazine dans les solvants utilisés pour la caractérisation chromatographique des alcaloïdes.

Pour la plupart de ces substances, les R_f sont supérieurs à 0,85 avec le butanol acétique et le butanol saturé d'eau sur papier imprégné de phosphate acide de potassium. Avec le butanol chlorhydrique sur papier imprégné de chlorure de potassium, le R_f est supérieur à 0,95.

Les associations médicamenteuses de ces substances avec les alcaloïdes ne sont pas très fréquentes. L'identification de l'alcaloïde sera rendue difficile en chromatographie dans le cas où il a un R_f supérieur à 0,85 (butanol acétique ou butanol saturé d'eau) ou à 0,95 (butanol chlorhydrique). Dans la plupart des cas, l'électrophorèse complètera l'analyse et permettra l'identification. Pour les alcaloïdes de R_f inférieur à 0,85, il n'y aura pas de risque d'erreur.

En électrophorèse, si on utilise les méthodes indiquées pour les alcaloïdes, la présence d'un dérivé de la phénothiazine pourra, encore plus qu'en chromatographie, gêner l'identification. En effet :

— En milieu acide formique à 1%, la migration des dérivés de la phénothiazine se fait vers la cathode comme pour les alcaloïdes. Les vitesses de déplacement ne sont pas identiques pour tous les produits étudiés : l'aminopromazine se déplace très rapidement, la chlorpromazine plus lentement. La méthopromazine et la diéthazine se déplacent sensiblement comme la brucine, la thiéthylpérazine comme la tubocurarine.

— En milieu ammoniacal, en respectant toutes les conditions opératoires indiquées, la méthode ne semble pas utilisable lorsqu'il s'agit des dérivés de la phénothiazine, les taches obtenues sont très faibles, diffuses et accompagnées de taches résiduelles.

Cependant malgré les difficultés signalées il sera possible, dans la majorité des cas, d'éviter de confondre un alcaloïde et un dérivé de la phénothiazine à condition d'utiliser la chromatographie avec plusieurs solvants et l'électrophorèse.

De plus les dérivés de la phénothiazine possèdent une réaction d'identité spécifique : en tube à essai, l'addition, à une solution aqueuse de l'un de ces produits, d'acide sulfurique dilué à 10% et de chlorure ferrique fait apparaître des colorations variables rouges, violacées ou roses. Sur papier la réaction est plus difficile à effectuer à cause de la présence d'acide sulfurique. On obtient ces mêmes colorations, mais le papier brunit et devient fragile.

Par ailleurs, l'identification d'un dérivé de la phénothiazine parmi les autres est possible. Signalons les méthodes mises au point par TABAU et VIGNE [105].

Ce problème a été également envisagé en toxicologie, soit pour détecter une intoxication possible, soit simplement pour contrôler un traitement, en particulier par EISDORFER et ELLENBOGEN [21] par NADEAU et SOBOLEWSKI [72] et par KOSIR et KOSIR [47].

DÉRIVÉS DE LA PHÉNOTHIAZINE FRÉQUEMMENT UTILISÉS (Ils sont classés par ordre alphabétique du nom commun)

ALIMÉMAZINE ($C_{18}H_{22}N_2S=298$)

Diméthylaminométhylpropylphénothiazine.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : faible fluorescence jaunâtre.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,90
Butanol saturé d'eau ..	0,88
Butanol chlorhydrique...	>0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 40 mm
Ammoniaque 10%.. ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

AMINOPROMAZINE (Fumarate) ($C_{19}H_{25}N_3S)_2$, $C_4H_4O_4=771$)

Diméthylaminopropylphénothiazine (fumarate).

EXTRACTION

La base peut être extraite par l'éther en milieu sodique.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : faible fluorescence jaunâtre.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,88
Butanol saturé d'eau ..	0,85
Butanol chlorhydrique...	>0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 73 mm
Ammoniaque 10% . ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

CHLORPROMAZINE (Chlorhydrate) ($C_{17}H_{19}N_2S$ Cl, Cl H=355,3)

Chlorodiméthylaminopropylphénothiazine (chlorhydrate)

EXTRACTION

Chloroforme acide : catégorie 1 ; très soluble.

La base peut être extraite par le chloroforme ou l'éther en milieu alcalin.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : faible fluorescence verdâtre.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

Acide sulfurique dilué chauffé : coloration rouge.

(Réaction d'identité à faire de préférence en tube à essais).

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,91
Butanol saturé d'eau ..	0,93
Butanol chlorhydrique...	>0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 38 mm
Ammoniaque 10% . ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

DIÉTHAZINE (Chlorhydrate) ($C_{18}H_{22}N_2S$, ClH=335)

Diéthylaminoéthylphénothiazine (chlorhydrate).

EXTRACTION

Chlorhydrate très soluble dans le chloroforme et l'eau ; insoluble dans l'éther.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : faible fluorescence jaunâtre.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

Acide sulfurique dilué chauffé : coloration rouge.

(Réaction d'identité à faire de préférence en tube à essais).

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,91
Butanol saturé d'eau ..	0,91
Butanol chlorhydrique...	>0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 48 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

DIMÉTHOXANATE (Chlorhydrate)

Chlorhydrate de phénothiazinecarboxylate de diméthylamino-éthoxyéthyle.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,88
Butanol saturé d'eau ..	0,85
Butanol chlorhydrique...	>0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 40 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

ISOTHAZINE (Chlorhydrate)

Diéthylaminopropylphénothiazine (chlorhydrate).

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : faible fluorescence jaunâtre.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,90
Butanol saturé d'eau ..	0,90
Butanol chlorhydrique...	>0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 40 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

LÉVOPROMAZINE (*Chlorhydrate ou maléate*) (Base : $C_{19}H_{24}ON_2S = 328,5$)

Méthoxydiméthylaminométhylpropylphénothiazine (chlorhydrate ou maléate).

EXTRACTION

Base insoluble dans l'eau, très soluble dans le chloroforme.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : faible fluorescence jaunâtre.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

Acide sulfurique dilué chauffé : coloration mauve.

(Réaction d'identité à faire de préférence en tube à essais).

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,90
Butanol saturé d'eau ..	0,90
Butanol chlorhydrique...	> 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % ..	1 h	— 40 mm
Ammoniaque 10 % ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

MÉTHOPROMAZINE

Maléate de méthoxydiméthylaminopropylphénothiazine.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : faible fluorescence jaunâtre.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,95
Butanol saturé d'eau ..	0,88
Butanol chlorhydrique...	> 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % ..	1 h	— 34 mm
Ammoniaque 10 % ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

PHÉNOTHIAZINE

Dibenzoparathiazine.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence jaune.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	> 0,95
Butanol saturé d'eau ..	0,95
Butanol chlorhydrique...	> 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % ..	1 h	tache résiduelle brun noir sans révélateur
Ammoniaque 10 % ..	1 h 30 mn	tache résiduelle brune sans révélateur

PIPAMAZINE

Chorocarbamoylpipéridinopropylphénothiazine.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,92
Butanol saturé d'eau ..	0,90
Butanol chlorhydrique...	>0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % ..	1 h	— 27 mm
Ammoniaque 10 % ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

PROCHLORPÉMAZINE (dimaléate ou méthanesulfonate)

Chlorométhylpipérazinylpropylphénothiazine (méthanesulfonate ou dimaléate).

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : très faible fluorescence jaunâtre.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

Acide sulfurique dilué chauffé : coloration rose.

(Réaction d'identité à faire de préférence en tube à essais)

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,90
Butanol saturé d'eau ..	0,90
Butanol chlorhydrique...	>0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % ..	1 h	tache allongée dont le centre se situe habituellement à — 55 mm.
Ammoniaque 10 % ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

PROMÉTHAZINE (Chlorhydrate) ($C_{17}H_{20}N_2S$, ClH = 321)

Diméthylaminopropylphénouthiazine (chlorhydrate).

EXTRACTION

Chlorhydrate très soluble dans l'eau et le chloroforme : catégorie 1.

La base peut être extraite par l'éther en présence de carbonate neutre de sodium.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : faible fluorescence jaunâtre.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

Acide sulfurique dilué chauffé : coloration rouge.

(Réaction d'identité à faire de préférence en tube à essais).

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique.. ..	0,88
Butanol saturé d'eau.. ..	0,85
Butanol chlorhydrique...	> 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1° ₀ ..	1 h	— 48 mm
Ammoniaque 10° ₀ ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

THIAZINAMIUM (Méthylsulfate) ($C_{19}H_{26}O_4N_2S_2$ = 410,5).

Phénouthiazinylpropyltriméthylammonium (méthylsulfate).

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : faible fluorescence jaunâtre.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,80
Butanol saturé d'eau	0,80
Butanol chlorhydrique...	> 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1° ₀ ..	1 h	— 48 mm
-----------------------------------	-----	---------

THIÉTHYLPÉRAZINE (Dimaléate)

Éthylthiométhylpiperazinypropylphénouthiazine (dimaléate).

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : faible fluorescence jaunâtre.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

Acide sulfurique dilué chauffé : coloration bleu vert.

(Réaction d'identité à faire de préférence en tube à essais).

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,90
Butanol saturé d'eau	0,92
Butanol chlorhydrique...	> 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1° ₀ ..	1 h	Tache allongée — 55 mm
Ammoniaque 10° ₀ ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

THIORIDAZINE (Chlorhydrate)

Méthylmercaptométhylpiperidyléthylphénothiazine (chlorhydrate).

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : faible fluorescence jaune.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,95
Butanol saturé d'eau ..	0,93
Butanol chlorhydrique...	> 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % ..	1 h	— 33 mm
Ammoniaque 10 % . ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

Nous avons rapproché des dérivés de la phénothiazine quelques médicaments utilisés, comme la plupart des précédents, en neurologie et en neuropsychiatrie. Ils appartiennent à des groupes chimiques divers.

AZACYCLONOL

Chlorhydrate de pipéridylbenzhydrol.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué	}	coloration orangée
Réactif de DRAGENDORFF concentré		
(formule IV)		
Réactif iodoplatinique : coloration violacée.		

BÉNACTYZINE (Chlorhydrate)

Diphénylhydroxyacétate de diéthylaminoéthanol (Chlorhydrate)

Extraction et caractérisation chromatographique étudiées par

VIALA et MONNET [111]

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,93
Butanol saturé d'eau ..	0,90
Butanol chlorhydrique...	> 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 % ..	1 h	— 43 mm
Ammoniaque 10 % . ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

CHLORDIAZÉPOXIDE (*Chlorhydrate*) ($C_{16}H_{14}N_3OCl$, ClH = 336)

Oxyde de chlorométhylaminophénylbenzodiazépine (*chlorhydrate*).

EXTRACTION

La base est soluble dans l'éther en milieu alcalin.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,95
Butanol saturé d'eau ..	0,98
Butanol chlorhydrique...	> 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 45 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

HYDROXYZINE (*Chlorhydrate*)

Bichlorhydrate de chlorobenzhydrylhydroxyéthoxyéthyl-diéthylènediamine.

Extraction et caractérisation chromatographique étudiées par VIALA et MONNET [411].

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,95
Butanol saturé d'eau ..	0,95
Butanol chlorhydrique...	> 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 43 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

IMIPRAMINE (*Chlorhydrate*)

Chlorhydrate de diméthylaminopropyliminodibenzyle.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,93
Butanol saturé d'eau ..	0,92
Butanol chlorhydrique...	> 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 43 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

TRIMÉPROPIMINE

Diméthylaminométhylpropyliminodibenzyle.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,92
Btuanol saturé d'eau ..	0,95
Butanol chlorhydrique...	>0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 40 mm
Ammoniaque 10% . .	1 h 30 mn	tache résiduelle

En conclusion, ces produits, de découverte relativement récente, pourront être associés à des alcaloïdes et en gêner notablement l'identification.

X. — ANTIHISTAMINIQUES

Ces médicaments appartiennent à des groupes chimiques variés. Ils ont été classés par ordre alphabétique du nom commun.

Quelques travaux ont été consacrés à la séparation des anti-histaminiques par chromatographie et par électrophorèse sur papier. Citons en particulier ceux de BARUFFINI [4].

ANTAZOLINE (Chlorhydrate)

Chlorhydrate de phénylbenzylaminométhylimidazoline.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,91
	0,89 BARUFFINI [4]
Butanol saturé d'eau ..	0,91
Butanol chlorhydrique...	>0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 51 mm
Ammoniaque 10% . .	1 h 30 mn	— 22 mm

CHLORANAUTINE ($C_7H_8O_2N_4$, Cl=213,5)

Chlorothéophyllinate de benzhydryloxydiméthyléthylamine.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,92
Butanol saturé d'eau ..	0,90
Butanol chlorhydrique...	>0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 51 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	tache diffuse + tache résiduelle

ÉTANAUTINE

Bithéophylline acétate de o-benzhydryldiméthylaminoéthanol.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,90
Butanol saturé d'eau ..	0,90
Butanol chlorhydrique...	>0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 51 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	tache diffuse + tache résiduelle

HISTABUTIZINE

Dichlorhydrate de chlorobenzhydrylbutylbenzyldiéthylènediamine.

RÉVÉLATEURS

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) ; coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,95
Butanol saturé d'eau ..	0,95
Butanol chlorhydrique...	>0,95

MÉPYRAMINE

Diéthylaminoéthylméthoxybenzylaminopyridine.

RÉVÉLATEURS

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

Butanol acétique 0,82 (BARUFFINI) [4].

PHÉNINDAMINE

Tartrate acide du méthylphényltétrahydropyridindène.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : tache orangée.

Réactif iodoplatinique : tache violacée.

CHROMATOGRAPHIE

	R _f
Butanol acétique	0,90
Butanol saturé d'eau. .	0,53
Butanol chlorhydrique...	> 0,95

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 48 mm
Ammoniaque 10% . .	1 h 30 mn	tache résiduelle

PHÉNOTHIAZINE (Dérivés)

Quelques dérivés de la phénothiazine sont utilisés comme antihistaminiques. Ils ont été étudiés p. 131.

THÉNOPHÉNOPIPÉRIDINE

Tartrate de méthylaminophénylthénylpipéridine.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée.

Conclusion : tous ces composés réagissent donc positivement avec les révélateurs utilisés et pourront gêner la caractérisation des alcaloïdes.

XI. — ANTIBIOTIQUES

Les antibiotiques sont rarement mélangés à des alcaloïdes. On les associe parfois à des anesthésiques locaux dans des préparations médicamenteuses telles que des tablettes ou comprimés destinés au traitement de la muqueuse buccale.

La même association se retrouve dans des préparations injectables « retard » en vue de rendre l'injection moins douloureuse.

Le risque de confusion avec des alcaloïdes n'est pas grand. On doit cependant rappeler que certains antibiotiques extraits de microorganismes donnent des réactions comparables à celles des alcaloïdes, surtout avec le révélateur de DRAGENDORFF. Cette particularité a été signalée par PARIS et THÉALLET [92]. Ces auteurs ont déterminé les R_f des antibiotiques dans différents solvants, en particulier celui de PARTRIDGE. Ils ont également étudié les déplacements en électrophorèse, mais dans des conditions opératoires un peu différentes de celles utilisées dans ce travail en ce qui concerne la concentration de l'électrolyte et la durée de l'expérience :

Tension : 520 volts pour 34 cm soit 15,3 V/cm.

Electrolyte : acide formique 5%.

Durée : 2 h.

Nous donnerons les résultats de ces auteurs (dont les initiales sont indiquées entre parenthèses) que nous avons simplement complétés.

Seuls gênent l'identification des alcaloïdes, les antibiotiques qui se révèlent par les réactifs de DRAGENDORFF et iodoplatinique. Nous nous limiterons donc à l'étude de ceux-ci, classés suivant leur constitution chimique.

1) POLYPEPTIDES

BACITRACINE

Antibiotique produit par *Bacillus licheniformis* (Weigmann) Chester, emend. Gibson, Bacillacées.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration brunâtre.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,60 (P. et T.)
Butanol saturé d'eau ..	tache allongée à partir de la ligne de départ jusqu'à R_f 0,5 environ.

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 5 % ..	2 h	— 44 mm (P. et T.)
Ammoniaque 10 % . ..	1 h 30 mn	+ 27 mm

COLIMYCINE

Antibiotique produit par *Aerobacillus colistinus*, Bacillacées.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée faible.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée faible.

Réactif iodoplatinique : décolore le révélateur.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,40 (P. et T.)
Butanol saturé d'eau ..	tache résiduelle.

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 5 % ..	2 h	— 85 mm (P. et T.)
Ammoniaque 10 % . ..	1 h 30 mn	tache très diffuse

PÉNICILLINE

Antibiotique produit par *Penicillium notatum* Westling et *P. chrysogenum* Thom., Aspergillacées.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée faible.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : décolore le révélateur.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,95 (P. et T.)
Butanol saturé d'eau ..	0,85

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 5 % ..	2 h	— 7 mm (P. et T.)
Ammoniaque 10 % . ..	1 h 30 mn	+ 35 mm

POLYMYXINE

Antibiotique produit par *Bacillus polymyxa* Prazmowski (= *Bacillus aerosporus*), Bacillacées.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,36 (P. et T.)
Butanol saturé d'eau ..	tache résiduelle.

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 5 % ..	2 h	— 80 mm (P. et T.)
Ammoniaque 10 % . ..	1 h 30 mn	+ 22 mm

TYROTHRICINE

Antibiotique produit par *Bacillus brevis* Migula emend. Ford., Bacillacées.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : légère fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration rouge orange.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration rouge orangé.

Réactif iodoplatinique : coloration gris violacé.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,95 (P. et T.)
Butanol saturé d'eau ..	tache allongée depuis la ligne de départ jusqu'au front du solvant.

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 5% ..	2 h	+ 8 mm (P. et T.)
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	+ 2 mm

2) HÉTÉROSIDES

ÉRYTHROMYCINE

Antibiotique produit par *Streptomyces erythreus* Waksman, Actinomycétales.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,87 (P. et T.)
Butanol saturé d'eau ..	0,90

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 5% ...	2 h	— 25 mm (P. et T.)
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	— 2 mm.

OLÉANDOMYCINE

Antibiotique produit par *Streptomyces antibioticus* Waksman et Woodruff, Actinomycétales.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,76 (P. et T.)
Butanol saturé d'eau ..	0,85

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 5 % ..	2 h	— 25 mm (P. et T.)
Ammoniaque 10 % . ..	1 h 30 mn	— 1 mm

SPIRAMYCINE

Antibiotique produit par *Streptomyces ambofaciens* Pinnert, Actinomycétales.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,67 (P. et T.)
Butanol saturé d'eau ..	0,52

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 5 % ..	2 h : 2 taches à — 45 mm et à — 25 mm (P. et T.).
Ammoniaque 10 % . ..	1 h 30 mn + 1 mm

3) TÉTRACYCLINE ET DÉRIVÉS

TÉTACYCLINE

Antibiotique surtout préparé à partir de la chlortétracycline.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence jaune.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,52 (P. et T.)
Butanol saturé d'eau . .	0,25 tache allongée.
Butanol chlorhydrique...	0,72

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 5% . .	2 h	— 36 mm (P. et T.)
Ammoniaque 10% . . .	1 h 30 mn	+ 19 mm tache allongée

CHLORTÉTACYCLINE

Antibiotique produit par *Streptomyces aureofaciens* Duggar, Actinomycétales.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence jaune.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,62 (P. et T.)
Butanol saturé d'eau . .	0,45 tache allongée
Butanol chlorhydrique...	0,76

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 5% . .	2 h	— 36 mm (P. et T.)
Ammoniaque 10% . . .	1 h 30 mn	tache résiduelle

DÉMÉTHYLCHLORTÉTRACYCLINE

Antibiotique préparé à partir de la chlortétracycline.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence jaune.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée.

CHROMATOGRAPHIE

	R _f
Butanol acétique . . .	0,62 (P. et T.)
Butanol saturé d'eau . .	0,50 tache allongée
Butanol chlorhydrique...	0,77

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 5 % . .	2 h	— 36 mm (P. et T.)
Ammoniaque 10 % . .	1 h 30 mn	tache résiduelle

OXYTÉTRACYCLINE

Antibiotique produit par *Streptomyces rimosus* Sobin, Finlay, et Kane, Actinomycétales.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence jaune.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée.

CHROMATOGRAPHIE

	R _f
Butanol acétique . . .	0,52 (P. et T.)
Butanol saturé d'eau . .	0,30 tache allongée
Butanol chlorhydrique...	0,71

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 5 % . .	2 h	— 36 mm (P. et T.)
Ammoniaque 10 % . . .	1 h 30 mn	+ 22 mm tache allongée

4) POLYÈNE

TRICHOMYCINE

Antibiotique produit par *Streptomyces hachijoensis* Hosoya, Actinomycétales.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration très faible.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration très faible.

Réactif iodoplatinique pas de coloration.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,42 (P. et T.)
Butanol saturé d'eau ..	tache très allongée.

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 5% ..	2 h	— 25 mm (P. et T.)
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	tache résiduelle

Conclusions : les antibiotiques étudiés réagissent, mais assez faiblement, avec les révélateurs d'alcaloïdes et ne gênent donc pas beaucoup leur identification.

XII. — VITAMINES A MOLÉCULE AZOTÉE

Quelques vitamines du groupe B peuvent être révélées par un ou plusieurs des réactifs d'alcaloïdes. Tel est le cas de la thiamine.

D'autres, la riboflavine et la cyanocobalamine ont une coloration propre très intense qui rend difficile l'essai des révélateurs. Comme dans le cas de toutes les substances colorées, la caractérisation d'un alcaloïde sera perturbée si les taches de ces produits sont proches après chromatographie ou électrophorèse. Dans le cas contraire, il n'y a pas de risque d'erreur.

NICOTINAMIDE ($C_6H_6ON_2=122,1$)

Amide pyridine carbonique, Vitamine B₃, Vitamine PP, Amide nicotinique.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF ordinaire : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration rouge orangé.

Réactif iodoplatinique : coloration brune peu intense.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,67
Butanol saturé d'eau ..	0,78

PYRIDOXINE

Dihydroxyméthylhydroxyméthylpyridinium. Vitamine B₆,

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : fluorescence violacée.

Réactif de DRAGENDORFF ordinaire : coloration orangée faible.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration gris bleuté.

CHROMATOGRAPHIE

	R _f
Butanol acétique	0,52
Butanol saturé d'eau ..	0,53
Butanol chlorhydrique...	0,67

THIAMINE (Chlorhydrate) (C₁₂H₁₇ON₄ClS, ClH, OH₂=355,3)

Chlorhydrate du chlorure de l'aminométhylpyrimidylméthyl-méthylhydroxyéthylthiazolium.

Vitamine B₁. Chlorhydrate d'aneurine.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Seuls, les produits d'oxydation ont une fluorescence bleue.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleue.

CHROMATOGRAPHIE

	R _f
Butanol acétique .. .	0,22
Butanol saturé d'eau ..	0,04
Butanol chlorhydrique...	0,08

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1% ..	1 h	— 98 mm
Ammoniaque 10% ..	1 h 30 mn	+ 5 mm

— Substances fortement colorées pour lesquelles les essais de révélation directe sur papier sont difficiles à interpréter :

CYANOCOBALAMINE (Vitamine B₁₂).

HYDROXOCOBALAMINE

RIBOFLAVINE (Vitamine B₂).

— Substance non colorée ne se révélant pas par les trois réactifs cités plus haut :

Vitamine B₅ : acide pantothénique.

XIII. — HORMONES ET SUBSTANCES HORMONALES A MOLÉCULE AZOTÉE

OCYTOCINE

Principe ocytocique du lobe postérieur de l'hypophyse.

Un essai de révélation directe sur papier a été effectué pour une solution à 5 unités par millilitre.

Aucun des trois révélateurs : de DRAGENDORFF dilué, de DRAGENDORFF concentré (formule IV) ou iodoplatitique ne donne de coloration.

VASOPRESSINE

Ne disposant pas des hormones pures, une suspension à 2 % de produit contenant :

40 unités ocytociques	}	par millilitre
40 unités vasopressives		
40 unités antidiurétiques		

est utilisée pour faire des essais de révélation directe sur papier :

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée faible.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée faible.

Réactif iodoplatitique : pas de coloration.

Les substances essayées se colorent donc faiblement ou pas du tout avec les révélateurs utilisés.

B. COMPOSÉS NON AZOTÉS

La molécule des substances azotées vues précédemment comporte en général, comme celle des alcaloïdes, des fonctions amines substituées, des hétérocycles azotés pouvant expliquer leur réactivité avec l'iodobismuthate ou l'iodoplatinate de potassium. Mais il existe également parmi les substances non azotées, des composés réagissant sur papier avec les révélateurs généraux des alcaloïdes.

I. — POLYALCOOLS ET DÉRIVÉS

Quelques polyalcools sont utilisés pour leurs propriétés thérapeutiques : inositol et sorbitol.

D'autres, à poids moléculaire élevé, servent d'excipients, tels sont les dérivés du sorbitol ou les produits de polymérisation de l'éthylène-glycol.

Des essais de révélation directe sur papier pour l'inositol et le sorbitol ont été négatifs.

Il n'en est pas de même pour tous les dérivés du sorbitol.

PRODUITS DE CONDENSATION D'ACIDES GRAS, DU SORBITOL ET DE POLYOXYÉTHYLÈNES :

Essai de révélation directe sur papier :

Réactif de DRAGENDORFF dilué et formule IV : coloration orangée.

POLYÉTHYLÈNEGLYCOLS :

Divers polymères de l'éthylèneglycol de formule générale :

$\text{CH}_2\text{OH}-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2\text{OH}$ sont employés comme excipients.

Si $n=3$, le poids moléculaire est voisin de 200, si $n=135$ il est alors voisin de 6000.

Les propriétés physiques dépendent du poids moléculaire : de 200 à 700, ce sont des liquides plus ou moins visqueux à la température ordinaire. A partir de 1000, les polyéthylèneglycols prennent un aspect cireux. Leur solubilité dans l'eau est très grande, mais elle varie en raison inverse du poids moléculaire.

Peu toxiques et peu irritants, ils sont utilisés dans les pommades ou les suppositoires en mélange avec les excipients classiques : beurre de cacao, lanoline, vaseline, glycérine, ou en remplacement de ceux-ci.

Au point de vue analytique, ils pourront gêner l'identification d'un alcaloïde en chromatographie ou en électrophorèse sur papier, car certains d'entre eux donnent une tache colorée par pulvérisation des révélateurs d'alcaloïdes.

Cette propriété a été signalée dès 1954 par JAMINET [40] qui sépare les différents polymères de poids moléculaire 300 à 6000 au moyen du solvant de PARTRIDGE. Les taches sont révélées par le réactif de DRAGENDORFF. Le même auteur étudie ensuite, par les mêmes procédés, la composition de plusieurs produits commerciaux [41].

COTTE [12] reprend ce problème en utilisant la chromatographie bidimensionnelle.

Le problème qui nous intéresse est un peu différent. Ces produits étant utilisés comme excipients, peuvent être présents à forte dose alors que l'alcaloïde se trouve en faible quantité. Il est donc impossible de caractériser l'alcaloïde par chromatographie ou électrophorèse sans l'avoir isolé de l'excipient ou tout au moins sans avoir retiré la plus grande partie de celui-ci.

La méthode générale d'extraction des alcaloïdes dans une pommade ou un suppositoire (p. 23) doit être modifiée. En effet les polyéthylènesglycols sont peu solubles dans l'éther de pétrole et très solubles dans l'eau à l'inverse du beurre de cacao, de la vaseline, de l'axonge, etc. Ils restent donc dans la phase aqueuse acide en même temps que les alcaloïdes. De plus, ils sont très solubles dans le chloroforme comme les bases d'alcaloïdes. Pour les éliminer, il faut donc faire une extraction par le chloroforme en milieu acide avant l'extraction en milieu ammoniacal. Cette méthode n'est utilisable que lorsque l'alcaloïde n'est pas, lui-même, extrait par le chloroforme en milieu acide.

Une autre méthode peut être employée. Ces produits sont pratiquement insolubles dans l'éther éthylique. On peut donc remplacer le chloroforme par l'éther ammoniacal qui dissout seulement la base de l'alcaloïde et laisse les polyéthylène-glycols en solution aqueuse.

A titre d'exemple, le comportement de trois produits commerciaux a été étudié en signalant que les R_f dans le solvant de PARTRIDGE ont été déterminés par JAMINET [40] et par COTTE [12].
TRIÉTHYLÈNE-GLYCOL :

Essai de révélation directe sur papier : les réactifs de DRAGENDORFF dilué et concentré (formule IV) et le réactif iodoplatinique ne donnent pas de coloration.

Le triéthylène glycol ne gêne donc pas la caractérisation des alcaloïdes sauf si, étant en grande quantité, il modifie leurs déplacements.

POLYÉTHYLÈNEGLYCOL 400

EXTRACTION

Ether acide : pratiquement insoluble.

Chloroforme acide : très soluble.

Ether ammoniacal : pratiquement insoluble.

Chloroforme ammoniacal : très soluble.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration rouge orangé.

Réactif iodoplatinique : coloration gris bleuté.

CHROMATOGRAPHIE

Butanol saturé d'eau : tache allongée comprise entre les R_f : 0,4 et 0,6.

Butanol chlorhydrique : tache allongée dont le centre se trouve à $R_f=0,65$.

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 %	..	1 h	0
--------------------	----	-----	---

Ammoniaque 10 %	..	1 h 30 mn	0
-----------------	----	-----------	---

POLYÉTHYLÈNEGLYCOL 4000

EXTRACTION

Ether acide : pratiquement insoluble.

Chloroforme acide : très soluble.

Ether ammoniacal : pratiquement insoluble.

Chloroforme ammoniacal : très soluble.

RÉVÉLATEURS

Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.

Réactif de DRAGENDORFF : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration bleu violacé.

CHROMATOGRAPHIE

Butanol saturé d'eau : R_f voisin de 0.

Butanol chlorhydrique : tache très allongée.

ELECTROPHORÈSE

Acide formique 1 %	..	1 h	0
--------------------	----	-----	---

Ammoniaque 10 %	..	1 h 30 mn	0
-----------------	----	-----------	---

Si le triéthylène-glycol ne réagit pas avec les révélateurs dans les conditions indiquées, il n'en est pas de même des polymères qui donnent des taches nettes.

II. — DÉRIVÉS AROMATIQUES

ASPIRINE

Cette substance, étant donné son importance en thérapeutique, mérite d'être mentionnée.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Les réactifs de DRAGENDORFF dilué ou concentré (formule IV) et le réactif iodoplatinique ne font pas apparaître de taches.

ESTERS DE L'ACIDE *p*-OXYBENZOÏQUE

(Esters méthylque et propylque).

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Les réactifs de DRAGENDORFF dilué ou concentré (formule IV) et le réactif iodoplatinique ne font pas apparaître de taches.

III. — LACTONES TERPÉNIQUES

Bien que leur molécule soit dépourvue d'azote, quelques produits d'origine naturelle de cette série donnent des taches colorées avec les révélateurs d'alcaloïdes, en particulier avec le réactif de DRAGENDORFF.

Dans l'analyse d'un extrait végétal ils peuvent donc prêter à confusion avec les alcaloïdes.

COLOMBINE ($C_{28}H_{28}O$)

Principe amer de la racine de Colombo : *Chasmanthera palmata*, H. Bn., Ménispermacées.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : faible coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : pas de coloration.

HÉLÉNINE (alantolactone) ($C_{15}H_{20}O_2$)

Lactone de la racine d'Aunée : *Inula helenium* L., Composées.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée faible.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : pas de coloration.

PICROTOXINE ($C_{31}H_{34}O_{13}$).

Principe amer toxique extrait de la Coque du Levant, *Anamirta cocculus* L. Wight. et Arm., Ménispermacées.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER

Réactif de DRAGENDORFF dilué	} pas de coloration
Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV)	
Réactif iodoplatiniq	

QUASSINE ($C_{22}H_{36}O_6$)

Principe amer du bois de Quassia : *Quassia amara* L. et *Picraena excelsa* Lindl., Simarubacées.

RÉVÉLATEURS

- Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.
- Réactif de DRAGENDORFF dilué : tache orangée peu intense.
- Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : tache orangée.
- Réactif iodoplatiniq : tache gris jaunâtre peu intense.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,95
Butanol saturé d'eau . .	0,95
Butanol chlorhydrique...	>0,95

SANTONINE ($C_{15}H_{18}O_3$)

Lactone extraite du Semen contra : *Artemisia maritima* L., *A. cina* Berg., Composées.

RÉVÉLATEURS

- Lumière ultraviolette : pas de fluorescence.
- Réactif de DRAGENDORFF dilué : tache orangée peu intense.
- Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : tache orangée.
- Réactif iodoplatiniq : tache gris jaunâtre peu intense.

CHROMATOGRAPHIE

	R_f
Butanol acétique	0,98
Butanol saturé d'eau . .	0,95
Butanol chlorhydrique...	>0,95

Ces lactones terpéniques se colorent donc surtout avec le réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV).

IV. — COMPOSÉS A NOYAU HÉTÉROCYCLIQUE OXYGÉNÉ

Dans ce groupe se trouvent des produits anticoagulants et des dérivés de la chromone dont certains sont extraits des végétaux.

1) DÉRIVÉS DU COUMARANE.

Des essais de révélation directe sur papier ont été effectués avec les trois révélateurs : réactifs de DRAGENDORFF dilué ou

concentré (formule IV), réactif iodoplatinique. Aucun d'eux n'a donné de tache avec les produits suivants :

ETHYLDICOMAROL

Ester éthylique de l'acide bishydroxycoumarineacétique.

WARFARINE

Hydroxycoumarinylphénylbutanone (sel sodique).

2) DÉRIVÉS DE LA CHROMONE

KHELLINE

Diméthoxyméthylfuranochromone.

Substance extraite des fruits de l'*Ammi visnaga* L., Ombellifères.

ESSAI DE RÉVÉLATION DIRECTE SUR PAPIER.

Réactif de DRAGENDORFF dilué : coloration orangée.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : coloration orangée.

Réactif iodoplatinique : coloration violacée.

L'amikhelline, dérivé aminé de la Khelline se révèle également par les trois réactifs cités plus haut.

V. — VITAMINES A MOLÉCULE NON AZOTÉE

Des essais de révélation directe sur papier ont été effectués pour les principales vitamines non azotées.

Aucun des trois révélateurs utilisés : réactifs de DRAGENDORFF dilué et concentré (formule IV) et réactif iodoplatinique n'a donné de coloration sur papier avec les substances suivantes :

Vitamine A.

Vitamine C : acide ascorbique.

Vitamine D₂.

Vitamine E : α tocophérol.

Vitamine K₁ : Phytoménadione. Méthyl-2-phytyl-3-naphtoquinone.

Vitamine K synthétique : ménadione. Ester diphosphorique de la méthyl-naphtoquinone.

VI. — HORMONES ET SUBSTANCES A ACTION HORMONALE A MOLÉCULE NON AZOTÉE

Les hormones et leurs dérivés de synthèse ont pris une très grande importance en thérapeutique. Quelques-uns de ces produits, parmi les plus utilisés, ont été étudiés.

II CORTISONE ET SES DERIVES

Les produits suivants ont été essayés :

CORTISONE

Formule chimique ci-dessous

HYDROCORTISONE

Formule chimique ci-dessous

PREDNISOLONE — DELTACORTISONE

Formule chimique ci-dessous

PREDNISONE — DELTACORTISONE

Deltadéhydrocortisone.

Aucun des trois révélateurs : de DRAGENDORFF dilué, de DRAGENDORFF concentré (formule IV) ou iodoplatinique n'ont donné de coloration.

FLUOROHYDROXY PREDNISOLONE — TRIAMCINOLONE

Des essais de révélation directe sur papier ont été effectués :

Réactif de DRAGENDORFF dilué : pas de coloration.

Réactif de DRAGENDORFF concentré (formule IV) : très faible

Réactif iodoplatinique : pas de coloration.

III ŒSTROÏDES DE SYNTHÈSE

MÉTHYLTESTOL

Formule chimique ci-dessous

STIBOESTROL

Formule chimique ci-dessous

Pour ces deux substances les essais de révélation directe sur papier avec les trois révélateurs : de DRAGENDORFF dilué, de DRAGENDORFF concentré (formule IV), iodoplatinique ont été négatifs.

En conclusion, ces essais ont montré que beaucoup de principes actifs et d'origine diverse, même les hormones, réagissent sur papier avec les révélateurs habituels.

Au cours de l'essai en chromatographie ou électrophorèse sur papier continuellement à alcool, il peut donc arriver que l'un ou des autres taches supposées ne correspondant pas aux éléments indiqués dans la formule. Il ne faut pas d'emblée conclure qu'il y a erreur de substance, les taches pouvant être dues à des excipients ou à des produits agissant comme interférents, émulsionnants, substances « retard », etc.

Parmi ceux-ci les polyéthylènes glycols, les dérivés du sorbitol, les ammoniums quaternaires à poids moléculaire élevé, la morpholine sont particulièrement à signaler. Les deux premières catégories de ces composés ne sont pas azotées.

Il est donc prudent, comme nous l'avons dit, de pratiquer des essais sur papier avec tous les produits rentrant dans la composition du médicament.

Si un doute subsiste, il est encore possible de voir si les réactions positives sur papier sont dues ou non à des produits azotés. La recherche de l'azote peut se faire par la méthode de CASTELLANA décrite par MALMY [58]. L'azote est transformé en cyanure par chauffage à température élevée en présence de magnésium et de carbonate de potassium. L'addition d'une solution ferroso-ferrique à la solution de cyanure, acidifiée par l'acide chlorhydrique, fait apparaître une coloration bleu de Prusse.

Il faut néanmoins remarquer :

— que l'azote des alcaloïdes n'est pas toujours facilement transformé en cyanure ;

— que la réaction n'est faiblement positive que pour une quantité minimale d'azote d'environ $20\mu\text{g}$, correspondant à $100\mu\text{g}$ de cyanure de potassium en solution dans 5 ml d'eau, soit $400\mu\text{g}$ d'un alcaloïde comme l'atropine qui renferme environ 5% d'azote. Il est donc impossible avec cette technique d'avoir une réaction positive avec les taches habituelles de 50 à $100\mu\text{g}$. Il est donc nécessaire de faire une élution d'un ou plusieurs chromatogrammes ou électrophorégrammes préparé avec des bandes (voir p. 103). On choisit un solvant ou un électrolyte donnant une bonne séparation des alcaloïdes et de la substance pouvant prêter à confusion.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Dans ce travail, ont été envisagés les nombreux problèmes posés par l'essai des médicaments à alcaloïdes par chromatographie et électrophorèse sur papier.

Dans une *première partie*, après un bref rappel des travaux de base sur la chromatographie des alcaloïdes, ont été examinées en détail les différentes étapes de l'analyse chromatographique d'un médicament à alcaloïde. Pour le calcul de la prise d'essai, il faut bien entendu tenir compte des limites de sensibilité de la chromatographie. La préparation de la liqueur extractive qui sera soumise à la chromatographie est souvent délicate lorsqu'on a affaire à des formes galéniques complexes comme les dragées, les suppositoires, les pommades. Une extraction, qui doit être quantitative, est généralement nécessaire pour séparer le ou les alcaloïdes des excipients et des substances qui les accompagnent.

La chromatographie proprement dite a été ensuite décrite en détail : appareillage, préparation des papiers et des solvants, dépôt des gouttes, développement, révélation, en faisant ressortir les difficultés et les précautions à prendre et en insistant sur la nécessité des témoins externes et internes.

Les risques d'erreur dans l'identification d'un alcaloïde ont conduit à l'étude des variations normales du R_f . Le calcul statistique permet de voir dans quels cas et avec quelle certitude des alcaloïdes donnés peuvent être séparés au cours d'une même chromatographie.

Ainsi, en utilisant le solvant de PARTRIDGE, l'écart entre deux moyennes de $R_f \times 100$ obtenues pour 10 déterminations commence à être significatif (avec une probabilité de 95%) à partir de 3 lorsque l'écart de la moyenne est voisin de 1 ce qui est le cas général.

Les trois méthodes (butanol acétique sur papier non traité, butanol saturé d'eau sur papier imprégné d'une solution de phosphate monopotassique, butanol chlorhydrique sur papier imprégné d'une solution de chlorure de potassium) que nous employons couramment dans le contrôle, ont été exposées en détail.

La *deuxième partie* est consacrée à des généralités sur l'application de l'électrophorèse sur papier à l'analyse des médicaments à alcaloïdes. D'un principe tout différent, cette méthode vient très utilement compléter les résultats de la chromatographie.

Pour la préparation de la liqueur extractive et la révélation, les techniques sont les mêmes qu'en chromatographie sur papier. L'appareillage et son utilisation ont été décrits en détail.

Comme nous l'avons indiqué dans la *troisième partie*, il est possible, à la suite de la séparation par l'une ou l'autre de ces méthodes de faire une évaluation des alcaloïdes, soit par comparaison visuelle avec des témoins, soit par photométrie des taches.

La *quatrième partie* de ce travail porte sur l'analyse des diverses catégories de médicaments renfermant des alcaloïdes. Les problèmes posés sont, en effet, différents suivant qu'il existe ou non, à côté des alcaloïdes des substances (excipients ou principes actifs) perturbant l'analyse. Un grand nombre de composés, même non azotés, sont révélés par les réactifs habituels des alcaloïdes (iodobismuthate et iodoplatinate de potassium) et il importe de les éliminer au cours de l'extraction, généralement par un épuisement au moyen du chloroforme en milieu acide.

Dans un *premier chapitre* les alcaloïdes purs ont été étudiés au point de vue de leur comportement lors de l'extraction et de la révélation (sensibilité) et leur R_f a été déterminé dans deux ou trois solvants. Les chiffres donnés sont, pour presque tous les alcaloïdes, la moyenne d'au moins dix déterminations, avec calcul de l'écart type.

Ont été ainsi étudiés trente-cinq alcaloïdes naturels et une dizaine d'alcaloïdes hémisynthétiques, couramment employés en thérapeutique. Les valeurs des déplacements en électrophorèse avec deux électrolytes différents (acide et alcalin) ont également été données.

Quelques exemples d'analyses de médicaments à alcaloïdes plus ou moins complexes ont été étudiés.

Dans un *deuxième chapitre*, les substances chimiques que l'on rencontre fréquemment en associations médicamenteuses avec des alcaloïdes, ont été passées en revue et leur comportement avec les révélateurs habituels des alcaloïdes a été étudié.

Sans qu'il nous soit possible d'examiner tous les produits naturels ou de synthèse actuellement utilisés en thérapeutique, nous avons néanmoins étudié cent-soixante-dix composés appartenant à des groupes chimiques différents, parmi lesquels cent dix donnaient des taches avec les révélateurs habituels des alcaloïdes.

A la suite de ces recherches et comme PARIS l'a signalé l'un des premiers des 1959 [73], il est nettement démontré qu'en chromatographie sur papier, les réactifs classiques à l'iodobismuthate et l'iodoplatinate de potassium ne doivent pas être considérés comme spécifiques. Non seulement, d'autres substances azotées (ammoniums quaternaires, dérivés de la phénothiazine, amino-alcools) donnent des réactions semblables, mais encore des substan-

ces non azotées (polyéthylène glycols, lactones terpéniques) peuvent réagir d'une façon analogue et parfois avec la même sensibilité.

Ces constatations sont de première importance en chimie analytique.

Au terme de ce travail, si nous n'avons pu présenter et résoudre par chromatographie et électrophorèse sur papier tous les problèmes que pose le contrôle des médicaments renfermant des alcaloïdes, nous espérons avoir mis en lumière, avec les difficultés de ces méthodes, toutes leurs possibilités et apporté ainsi une contribution utile à l'essai des médicaments.

TABLE ALPHABÉTIQUE DES SUBSTANCES ÉTUDIÉES

	Pages		Pages
Acétaminosalol	117	Berberine	72
Acétanilide	116	Bétaine	114
Acétylcholine	113	Boldine	73
Acétylcholine (méthyl).....	114	Brucine	73
Aconitine	70	Butacaine	111
Adiphénine	113	Butoforme	107
Adrénaline	114		
Adrénochrome (mono semicar-		Caféine	74
bamate).....	115	Capsaïcine	117
Ajmaline	70	Céthexonium	107
Alcaloïdes modifiés	89	Cétriminium	107
Alcaloïdes vrais	68	Chloranautine	142
Alimémazine	133	Chlordiazépoxide	140
Amides	116	Chloroquine	130
Amidopyrine	125	Chloroquine (hydroxy)	131
Amikhelline	157	Chlorpromazine	134
Amines (série aromatique) ..	107	Chlortétracycline	148
Amines (série grasse)	105	Choline	113
Amino-acides	116	Choline (dérivés de la)	113
Amino-alcools	109	Choline (acétyl)	113
Amino-alcools (esters)	109	Choline (acétyl méthyl)	114
Amino-alcools-phénols	114	Chromone (dérivés de la)	157
Aminophénols	111	Cicutine	74
Aminophylline	97	Cinchopène	131
Aminopromazine	134	Cobalamine (cyano)	151
Amphétamine	115	Cobalamine (hydroxo)	151
Amylène	110	Cocaïne	75
Anesthésiques locaux de syn-		Codéine	75
thèse... 107, 108, 109, 117,	131	Codéthyline	90
Antazoline	141	Colchicine	76
Antibiotiques	143	Colimycine	145
Antihistaminiques	141	Colombine	155
Antipyrine	124, 125	Composés azotés	105
Apomorphine	90	Composés non azotés	152
Arécoline	71	Cortisone	158
Ascorbique (acide)	157	Cortisone (hydro)	158
Aspirine	155	Coumarane (dérivés du)	156
Atropine	71	Cyanocobalamine	151
Azacyclonol	139	Cystéine	116
Bacitracine	144	Déméthylchlortétracycline	149
Barbital	118	Dextromoramide	130
Barbituriques	118	Diamorphine	91
Bénactyzine	139	Dibucaïne	131
Benzalkonium	106	Dicoumarol (éthyl)	157
Benzoïque (acide <i>p</i> -amino)...	107	Diénoestrol	158
Benzoïque (ester méthylique de		Diétamiphylline	97
l'acide <i>p</i> -oxy).....	155	Diéthazine	135
Benzoïque (ester propylique de		Dihydrone	91
l'acide <i>p</i> -oxy).....	155		

	Pages		Pages
Diméthoxanate	135	Khelline	157
Diprophylline	98		
Emétine	76	Lactones terpéniques	155
Ephédrine	77	Lévonpromazine	136
Ergotamine	78	Lignocaïne	117
Erythromycine	146	Lobéline	80
Esérine	78	Lysidine	126
Étanautine	142		
Ethionamide	123	Menadione	157
Ethoforme	108	Mépyramine	143
Ethylidicoumarol	157	Mercurphylline	98
Ethylèneglycols (poly)	153	Méthionine	116
Ethylèneglycol (tri)	154	Méthopromazine	136
Exalgine	117	Méthoserpidine	96
		Méthylacétylcholine	114
Fluodrohydroxyprednisolone ..	158	Méthylpentynol (carbamate de) ..	118
Furanne (dérivés du)	123	Morphine	81
		Morpholine	129
Galéguine	119		
Gallamine	108	Nalorphine	94
Génatropine	92	Naphtazoline	126
Genésérine	92	Narcéine	81
Génoscopolamine	93	Narcotine	82
Génostrychnine	93	Néostigmine	118
Glybutamide	119	Néosynéphrine	115
Glycol (triéthylène)	154	Nialamide	122
Glycols (polyéthylène)	153	Nicéthamide	128
Guanidine (dérivés de la) ...	119	Nicotinamide	150
		Nor-adrénaline	115
		Noscapine	82
Hétérocyclique azoté (composés à noyau)	123	Ocytocine	151
Hétérocyclique oxygéné (com- posés à noyau)	156	Oestrogènes de synthèse.	158
Hélinine	155	Oléandomycine	147
Hexamine	109	Orthoforme	108
Hexapropymate	118	Oxazine (dérivés)	129
Histabutizine	142	Oxyquinol	130
Histamine	126	Oxytétracycline.	149
Homatropine	94		
Hordénine	79	P-aminobenzoïque (acide) ..	107
Hormones à molécule azotée ..	151	P-aminobenzoïque (esters de l'acide).	107
Hormones à molécule non azotée.	157	P-aminosalicylique (acide)	108
Hydantoïne (dérivés de l')....	119	Papavérine	82
Hydrastine	79	Paréthoxycaine	111
Hydrastinine	94	P.A.S.	108
Hydrazides	122	Pasiniazide	123
Hydrazines	122	Pénicilline	145
Hydrocortisone	158	Pentétrazol	126
Hydroxocobalamine	151	Penthiobarbital	118
Hydroxychloroquine	131	Péthidine	128
Hydroxyzine	140	Phénacémide	118
Hyoscyamine	80	Phénacétine	118
		Phénbutamide	120
Imides	122	Phénicarbazide	123
Imipramine	140	Phénindamine	143
Inositol	152	Phénytoïne	119
Iproniazide	122	Phénobarbital	118
Isoniazide	122	Phénothiazine	136
Isothazine	135	Phénylbutazone	125

	Pages		Pages
Phényléthylcarbinol (carbamate).	118	Sulfathiazol	121
Pholcodine	95	Sulfonamides	119
Phytoménadione	157		
Picrotoxine	156	Tétracaïne	112
Pilocarpine	83	Tétracycline	148
Pipamazine	137	Tétracycline (dérivés)	148
Pipérazine	128	Tétracycline (chor-)	148
Polyalcools	152	Tétracycline (déméthylchlor-)	149
Polyalcools (dérivés des).	152	Tétracycline (oxy)	149
Polyéthylène glycols	153	Thénophénopipéridine	143
Polymyxine	145	Théobromine	87
Polyvidone	127	Théophylline	88
P-oxybenzoate de méthyle	155	Théophylline (dérivés)	96
P-oxybenzoate de propyle	155	Théophylline (éthanoate de diéthyl-amino).	99
Prédnisolone	158	Théophylline (hydroxyéthyl)	98
Prédnisolone (fluodro-hydroxy).	158	Thiamine	151
Prédnisone	158	Thiazinamium	138
Procaïne	112	Thiéthylpérazine	138
Procalmadiol	118	Thiobarbiturique	118
Prochlorpémazine	137	Thioridazine	139
Prométhazine	138	Tocophérol (acétate de).	157
Pyridine	127	Tolazoline	127
Pyridoxine	151	Tolglybutamide	121
Pyriméthamine	129	Triamcinolone	158
Pyrrrolamidol	130	Trichomycine	150
		Triéthylèneglycol	154
Quassine	156	Trimépropimine	141
Quinidine	83	Tubocurarine	88
Quinine	84	Tyramine	115
Quinoléine (dérivés de la)	130	Tyrosine	116
		Tyrosine	146
Rescinnamine	84	Uréthane (dérivés)	118
Résérpate de méthyle (carbéthoxy,syringate)	96		
Résérpine	85	Vasopressine	152
Résérpine (dérivés)	95	Vitamines à molécule azotée	150
Riboflavine	151	Vitamines à molécule non azotée	157
		Vitamine A.	157
Saccharine	122	Vitamine B ₁	151
Santonine	156	Vitamine B ₂	151
Scopolamine	85	Vitamine B ₃	150
Scopolamine (bromure de N-butyl)	95	Vitamine B ₅	151
Sorbitol	152	Vitamine B ₅	151
Sorbitol (dérivés du).	152	Vitamine B ₁₂	151
Spartéine	86	Vitamine C	157
Spiramycine	147	Vitamine D ₂	157
Stilboestrol	158	Vitamine E.	157
Strychnine	86	Vitamine K	157
Sulfadiazine	120	Vitamine K ₁	157
Sulfadimérazine	120	Vitamine PP	150
Sulfaguandine	120		
Sulfamérazine	120	Warfarine	157
Sulfaméthizol	120		
Sulfaméthoxy-pyridazine	121	Yohimbine	89
Sulfanilamide	121		
Sulfapyridine	121		

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. ALLOUF (R.) et MUNIER (R.). — Séparation microchromatographique sur papier des dérivés nicotiniques et des N méthyl pyridones. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1952, **34**, p. 196-203.
2. AUDUBERT (R.) et DE MENDE (S.). — Les principes de l'électrophorèse. Presses universitaires de France, Paris, 1957.
3. BARTON (G.M.), EVANS (R.S.) et GARDNER (J.A.F.). — Paper chromatography of Phenolic Substances. *Nature*, 1952, **170**, p. 249 et 250.
4. BARUFFINI (A.). — Elettroforesi e Cromatografia su carta di alcuni antistaminici. *Il Farmaco* (Ediz. Prat.), 1958, **13**, p. 459-465.
5. BLOCK (R.J.), DURRUM (E.L.) et ZWEIG (G.). — A Manual of paper chromatography and paper electrophoresis. Academic press, New-York, 1955.
6. BÜCHI (J.). — Die Anwendung der Papierchromatographie in der Arzneimittelpfprüfung. *Mitteil. deutsch. pharm. Gesellschaft*, 1957, **27**, p. 181-194.
7. BÜCHI (J.) et SCHUMACHER (H.). — Die Reinheitsprüfung der Alcaloide mit Hilfe der Papierchromatographie. *Pharm. Acta Helv.*, 1957, **32**, p. 194-204.
8. CASTEL (P.) et ATISSO (M.). — Essai de séparation de quelques anesthésiques locaux de synthèse d'après leur solubilité. *Tr. Soc. Pharm. Montpellier*, 1956, **16**, p. 83-89.
9. CHABASSE-MASSONNEAU (J.). — Extractions d'alcaloïdes par échangeurs d'ions. *Ann. pharm. fr.*, 1953, **11**, p. 696-713.
10. CHANDA (N.B.) et CHAKRABORTY (S.). — Murexide Test in Paper chromatography. *Nature*, London, 1958, **181**, p. 836.
11. CONSDEN (R.), GORDON (A.H.) et MARTIN (A.J.P.). — Qualitative analysis of Proteins: a Partition chromatographic Method using Paper. *Biochem. Jour.*, 1944, **38**, p. 224-232.
12. COTTE (J.). — Contribution à l'étude analytique des polymères de l'oxyde d'éthylène et de leurs dérivés par séparation chromatographique sur papier. *Bull. Trav. Soc. Pharm. Lyon*, 1957, p. 113-120.
13. CREMER (H.) et TISELIUS (A.). — Elektrophorese von Eiweiss in Filtrierpapier. *Biochem. Zeit.*, 1950, **320**, p. 273-283.
14. CURRY (A.S.) et POWELL (H.). — Paper chromatographic Examination of the Alkaloid Extract in Toxicology. *Nature*, London, 1954, **173**, p. 1143-1144.
15. DECKERS (W.) et SCHREIBER (J.). — Trennung von Alcaloïden durch Papierelectrophorese. *Naturwiss.*, 1953, **40**, p. 553-554.
16. DELTOMBE (J.) et LEBOUTTE (G.). — Les méthodes de dosage de l'amylocaïne. *Jour. Pharm. Belg.*, 1958, **13**, p. 38-43.

17. DILLEMANN (G.), PARIS (R.) et CHAUMELLE (P.). — Essai des *Rauwolfia* V. *Rauwolfia longecuminata* de Wild. et Th. Dur. et *R. obscura* K. Schumann. *Ann. pharm. fr.*, 1958, **16**, p. 504-510.
18. DOMANGE (L.). — Utilisation des résines échangeuses d'ions en Chimie analytique. *Rev. Doct. Pharm. Fr.*, 1953, **42**, p. 105-121.
19. DRAGENDORFF (G.). — Manuel de toxicologie. (Traduit par RITTER (E.). — Paris, Savy Édit., 1875.
20. DURAND (M.). — Contribution à l'étude des Aloès officinaux et en particulier de leur essai physico-chimique. *Thèse Doct. Etat Pharm.* Paris, 1958.
21. EISDORFER (I.B.) et ELLENBOGEN (W.C.). — A chromatographic procedure for separating chlorpromazine derivatives. *Journ. Chromatography*, 1960, **4**, p. 329-333.
22. FARNSWORTH (N.R.), PILEWSKI (N.A.) and DRAUS (F.J.). — Studies on false positive alkaloid reactions with Dragendorff's reagent. *Lloydia* 1962, **25**, p. 312-319.
23. FAUGERAS (G.). — Contribution à l'étude des alcaloïdes et flavonoïdes chez quelques Gémistées indigènes à l'aide de l'électrophorèse. *Thèse Doct. Etat, Pharm.*, Paris, 1956.
24. FAUGERAS (G.). — Sur l'apparition accidentelle chez les Ajoncs (*Ulex europaeus* L. et *Ulex nanus* Forst.) de jeunes tiges feuillées riches en alcaloïdes. *Journ. d'Agr. trop. et Bot. appl.*, 1958., **5**, p. 182-185.
25. FAUGERAS (G.) et DILLEMANN (G.). — Les Aconits. II : Distribution des alcaloïdes chez des plantes d'origines différentes. Etude qualitative. *Ann. pharm. fr.*, 1960, **18**, p. 465-473.
26. FAUGERAS (G.) et PARIS (R.). — Les Aconits. III : Distribution des alcaloïdes chez des plantes d'origines différentes. Etude quantitative. Toxicité. *Ann. pharm. fr.*, 1960, **18**, p. 474-480.
27. FAUGERAS (G.), PARIS (R.) et MEYRUEY (M.H.). — Sur les alcaloïdes du *Retama raetam* Webb. et Berth. (*Genista raetam* Forsk.) Isolement de la cytisine à partir des fruits. *Ann. pharm. fr.* 1962, **20**, p. 768-776.
28. FIELD (G.) et TEAGUE (S.). — *J. Exp. Med.*, 1907, 9. Dans WUNDERLY (Ch.) : Electrophorèse sur papier. Vigot, 1956. Voir réf. n° 114.
29. FISCHER (P.) et BÜRGIN (A.). — Pharmazeutisch - Chemische Analyse. *Pharm. Acta Helv.*, 1956, **31**, p. 518-542.
30. FRANÇOIS (M.) et SEGUIN (L.). — Sur la préparation d'un iodobismuthate de quinine amorphe et sur son analyse. *Jour. Pharm. Chim.* 1925, **2**, p. 59-69.
31. FURGIUELE (A.R.), FARNSWORTH (N.R.) et BUCKLEY (J.P.). — False positive alkaloid reactions obtained with extracts of *Piper methysticum*. *Journ. of Pharmaceutical Sciences*, 1962, **51**, p. 1156-1162.
32. GARCIA (I.) et COUERBE (J.). — Application de la chromatographie de partage à la bromatologie. *Chim. anal.* 1956, **38**, p. 410-412.
33. GARCIA (I.) et COUERBE (J.). — Chromatographie de partage des ammoniums quaternaires antiseptiques. *Chim. anal.*, 1956, **38**, p. 432-434.
34. GELEBART (M.F.). — Sur une propriété de l'amyléine et de la spartéine. *Ann. pharm. fr.*, 1958, **16**, p. 574.

35. GIRARD (M.), DECHOSAL (J.) et ROUSSELET (F.). — Pratique de l'électrophorèse sur papier en biologie clinique. Edit. Doin, Paris, 1958.
36. GOLDBAUM (L.R.) et KAZYAK (L.). — Identification of Alkaloids and other basic Drugs by Paper Partition Chromatography. *Anal. Chem.*, 1956, **28**, p. 1289-1290.
37. HAUGAARD (G.) et KRONER (Th.D.). — Partition Chromatography of Amino Acids with applied voltage. *J. am. Chem. Soc.* 1948, **70**, p. 2135-2137.
38. HEGI (H.R.). — Papier chromatographischer Nachweis des Theophyllins und seiner wasserlöslichen Derivate in Arzneizubereitungen. *Pharm. Acta. Helv.* 1959, **34**, p. 105-109.
39. JAMINET (F.). — Séparation de quelques anesthésiques locaux par chromatographie de partage sur papier. *Journ. Pharm. Belg.* 1951, **6**, p. 81-85.
40. JAMINET (F.). — Séparation microchromatographique sur papier de quelques polymères de l'oxyde d'éthylène. *Journ. Pharm. Belg.*, 1954, **9**, p. 318-324.
41. JAMINET (F.). — Contribution à l'étude de la constitution du Postonal. *Journ. Pharm. Belg.*, 1955, **10**, p. 361-368.
42. JAMINET (F.). — Etude comparée des méthodes planimétrique et densitométrique en chromatographie quantitative sur papier. Application au dosage des alcaloïdes et des amines du Genêt à balais (*Sarothamnus scoparius* L.). *Pharm. Acta Helv.* 1959, **34**, p. 571-584.
43. KARIYONE (T.) et HASHIMOTO (Y.). — Paper partition chromatography of some organic bases by the method of N-methylation. *Nature*, 1951, **168**, p. 739.
44. KARIYONE (T.), HASHIMOTO (Y.), MORI (I.) et KIMURA (M.). — Paper Electromigration and Electrochromatography of organic bases. *Journ. Pharm. Soc. Japan*, 1953, **73**, p. 808-809.
45. KENDALL (R.P.) et MARSHALL (H.S.B.). — Ester formation in acide alcohol mixtures : effect on R_f values in paper chromatography. *Chem. and Indust.*, 1959, 1353-1354.
46. KOENIG (P.). — Actas e Trabalhos do terceiro Congresso Sud americano do chemica, Rio de Janeiro et Sao Paulo. 1937, **2**, p. 334 in BLOCH (R.), DURRUM (E.L.) et ZWEIG (G.). Voir réf. n° 5.
47. KOSIR (B.) et KOSIR (J.). — Dokazivanje morfija poleg Largactila v urinu (Identification de la morphine en présence de Largactil dans l'urine). *Acta Pharm. Jugos.*, 1956, **6**, p. 171-182.
48. LAPIÈRE (C.L.) et LAURANT-ROUBY (B.). — Analyse du mélange procaine sulfanilamide. *Journ. Pharm. Belg.*, 1960, **15**, p. 344-352.
49. LEBEAU (P.), JANOT (M.M.), GUILLOT (M.), VALETTE (G.), RAOUL (Y.), MORETTE (A.), CHAIGNEAU (M.) et CORRIEZ (P.). — Traité de Pharmacie chimique. Edit. Masson et C^{ie}, 1955-1956.
50. LEDERER (E.). — Monographies de Chimie organique. Chromatographie en Chimie organique et biologique. Edit. Masson et C^{ie}, Paris, 1959.
51. LEDERER (E.) et LEDERER (M.). — Chromatography. A review of principles and applications. Elsevier publishing Company. Amsterdam, 1953.

52. LEISERSON (L.) et WALKER (T.B.). — Paper chromatography of nicotine and related compounds. *Anal. Chemistry*, 1955, **27**, p. 1129-1130.
53. LOISELEUR (J.). — Techniques de laboratoire. Chimie physique. Chimie biologique. Masson et C^{ie}. Edit. Paris 1954.
54. MACEK (K.), HACAPERKOVA (J.) et KAVAC (B.). — Systematische Analyse von Alkaloiden mittels Papierchromatographie. *Die Pharmazie*, 1956, **11**, p. 533-538.
55. MACHEBŒUF (M.), DUBERT (J.M.) et REBEYROTTE (P.). — Microélectrophorèse sur papier avec évaporation continue du solvant (électrorhéophorèse). II. Etude théorique. Application à la mesure des mobilités électrophorétiques. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1953, **35**, p. 346-364.
56. MACHEBŒUF (M.), REBEYROTTE (P.) et BRUNERIE (M.). — Applications aux sérums pathologiques, aux urines et aux liquides d'ascite de la méthode de microélectrophorèse sur papier. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1951, **33**, p. 1543-1551.
57. MACHEBŒUF (M.), REBEYROTTE (P.), DUBERT (J.-M.) et BRUNERIE (M.). — Microélectrophorèse sur papier avec évaporation continue du solvant (électrorhéophorèse). *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1953, **35**, p. 334-345.
58. MALMY (M.). — Diagnose des médicaments chimiques. 5^e édit. Paris 1940. Le François édit.
59. MORICE (E.) et CHARTIER (F.). — Méthode statistique. Imprimerie nationale. Paris, 1954.
60. MUNIER (R.). — Microchromatographie de partage des alcaloïdes et de diverses bases azotées biologiques. *Thèse Ingénieur Docteur*, Paris, 1950.
61. MUNIER (R.). — Microchromatographie de partage sur papier des alcaloïdes et de diverses bases azotées biologiques. Dérivés nicotiniques et tryptophane. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1951, **33**, p. 857-861.
62. MUNIER (R.). — Microchromatographie de partage sur papier des alcaloïdes et de diverses bases azotées biologiques. Séparation des constituants azotés des phosphoaminolipides : Choline, Colamine, Sérine. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1951, **33**, p. 862-867.
63. MUNIER (R.). — In LOISELEUR. Voir réf. n° 53.
64. MUNIER (R.). — Séparation des alcaloïdes de leurs N oxydes par chromatographie sur papier. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1953, **35**, p. 1225-1231.
65. MUNIER (R.) et MACHEBŒUF (M.). — Microchromatographie de partage des alcaloïdes et de diverses bases azotées biologiques. *Bul. Soc. Chim. biol.*, 1949, **31**, p. 1144-1162.
66. MUNIER (R.) et MACHEBŒUF (M.). — Microchromatographie de partage des bases azotées dans des phases solvantes acides. *C. R. Acad. Sc.*, 1950, **230**, p. 1177-1179.
67. MUNIER (R.) et MACHEBŒUF (M.). — Microchromatographie de partage des alcaloïdes et de diverses bases azotées biologiques. Utilisation de phases solvantes acides. Considérations sur l'importance de la constante de dissociation des alcaloïdes. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1950, **32**, p. 192-212.
68. MUNIER (R.) et MACHEBŒUF (M.). — Essais préliminaires de microchromatographie sur papier des alcaloïdes par des phases miscibles à l'eau. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1950, **32**, p. 904-907.

69. MUNIER (R.) et MACHEBŒUF (M.). — Microchromatographie de partage sur papier des alcaloïdes et de diverses bases azotées biologiques. Exemple de séparation de divers alcaloïdes par la technique des phases solvantes acides. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1951, **33**, p. 846-856.
70. MUNIER (R.), MACHEBŒUF (M.) et CHERRIER (N.). — Microchromatographie des alcaloïdes et des bases azotées biologiques sur papier, préalablement traité par des sels. Papiers phosphatés. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1951, **33**, p. 1919-1929.
71. MUNIER (R.), MACHEBŒUF (M.) et CHERRIER (N.). — Microchromatographie des alcaloïdes et des bases azotées biologiques sur papiers imprégnés par des sels. Amélioration de la technique des phases solvantes acides. Utilisation des papiers imprégnés par des sels dont l'anion est celui de l'acide qui acidifie la phase solvante. *Bull. Soc. Chim., biol.*, 1952, **34**, p. 204-214.
72. NADEAU (G.) et SOBOLEWSKI (G.). — Identification et dosage des drogues de la famille des phénothiazines par chromatographie sur papier. *Jour. Chromatography*, 1959, **2**, p. 544-546.
73. PARIS (R.). — Emploi de la chromatographie et de l'électrophorèse sur papier pour le contrôle des médicaments d'origine végétale. Karlovy-Vary, sept. 1959; *Ceskosl. Farm.*, 1960, **9**, 252.
74. PARIS (R.). — Progrès récents dans le contrôle des médicaments végétaux par chromatographie et électrophorèse sur papier. Mises au point de chimie analytique. 9^e série. Masson et C^{ie} édit., Paris, 1961. p. 181-199.
75. PARIS (R.). — Chromatographie sur papier des alcaloïdes et des flavonoïdes. 2^e Symposium international de Chromatographie. Bruxelles, 16 sept. 1962.
76. PARIS (R.) et DELAVEAU (P.). — Recherches sur les Droséras. *Ann. pharm. fr.*, 1959, **17**, p. 585-592.
77. PARIS (R.) et DILLEMANN (G.). — A propos de l'essai des *Rauwolfia*. Examen de deux espèces du Congo belge *Rauwolfia inebrians* K. Schum. et *R. obscura* K. Schum. *Ann. pharm. fr.*, 1956, **14**, p. 505-518.
78. PARIS (R.) et DILLEMANN (G.). — Sur deux *Rauwolfia* du Laos. *Rauwolfia serpentina* Benth. et *Rauwolfia cambodiana* Pierre. *C.R. Acad. Sc.*, 1957, **244**, p. 254.
79. PARIS (R.) et DILLEMANN (G.). — Essai des *Rauwolfia*. II. Essai du *Rauwolfia vomitoria* Afz. et de quelques espèces africaines voisines. *Ann. pharm. fr.* 1957, **15**, p. 310-321.
80. PARIS (R.) et DILLEMANN (G.). — Essai des *Rauwolfia*. IV. L'espèce collective *R. tetraphylla* L. ou *R. canescens* L. *Ann. pharm. fr.* 1958, **16**, p. 225-235.
81. PARIS (R.), DILLEMANN (G.) et CHAUMELLE (P.). — Essai des *Rauwolfia*. III. *Rauwolfia macrophylla* Stapf. *Ann. pharm. fr.*, 1957, **15**, p. 360-367.
82. PARIS (R.), DILLEMANN (G.) et FAUGERAS (G.). — Les Aconits. I. Etude de la distribution de leurs alcaloïdes par électrophorèse sur papier. *Ann. pharm. fr.*, 1959, **17**, p. 188-199.
83. PARIS (R.) et FAUGERAS (G.). — Application de l'électrophorèse à la séparation des alcaloïdes et des dérivés flavoniques chez quelques Légumineuses. *Ann. pharm. fr.*, 1955, **13**, p. 359-368.
84. PARIS (R.) et FAUGERAS (G.). — A propos du dosage des alcaloïdes des Jusquiames. *Ann. pharm. fr.*, 1956, **14**, p. 537-541.

85. PARIS (R.) et FAUGERAS (G.). — Séparation et caractérisation à l'aide de l'électrophorèse des alcaloïdes chez quelques Solanacées indigènes et exotiques. *Ann. pharm. fr.*, 1958, **16**, p. 403-408.
86. PARIS (R.) et FAUGERAS (G.). — Application de l'électrophorèse à quelques cas difficiles de séparation d'alcaloïdes (bases puriques, atropine, brucine, strychnine, cocaïne, morphine). *Ann. pharm. fr.*, 1958, **16**, p. 305-311.
87. PARIS (R.) et FAUGERAS (G.). — Electrophorèse des alcaloïdes. *Journ. Pharm. Belg.*, 1959, **14**, p. 15-21.
88. PARIS (R.), FAUGERAS (G.), BALARD (L.) et CAPMAL (M.). — Evaluation par chromatographie ou électrophorèse sur papier de la morphine chez les capsules de Pavot. Application à leur sélection. *Ann. pharm. fr.*, 1961, **19**, p. 494-500.
89. PARIS (R.) et FRIGOT (P.). — Etude par chromatographie et par électrophorèse des alcaloïdes de diverses Crassulacées indigènes, caractérisation de la nicotine chez *Sempervivum arachnoideum* L. *C.R. Acad. Sc.*, 1959, **248**, p. 1849.
90. PARIS (R.) et LETOUZEY (R.). — Répartition des alcaloïdes dans le Yohimbé (*Pausinystalia Yohimbe* K. Schum. ex Pierre). Rubiacées. *Journ. Agr. trop. Bot. appl.*, 1960, **7**, p. 256.
91. PARIS (R.) et MOYSE (H.). — Examen en électrophorèse sur papier des alcaloïdes totaux de diverses espèces de Pervenches. *C.R. Acad. Sc.*, 1957, **245**, p. 1265-1268.
92. PARIS (R.) et THÉALLET (J.-P.). — Caractérisation de quelques antibiotiques par chromatographie et électrophorèse sur papier. *Ann. pharm. fr.*, 1962, **20**, p. 436-442.
93. REDON (J.C.). — Contribution à la recherche et à l'identification des alcaloïdes en analyse toxicologique. *Thèse Doct. Univ. Pharm.*, Clermont-Ferrand, 1958.
94. REICHELT (J.). — Papier Chromatographie der Alkaloïde II. Identifizierung einigen Alkaloïde in pharmazeutischen Präparaten. *Die Pharmazie*, 1956, **11**, p. 718-724.
95. RENAULT (H.). — Application des résines échangeuses d'ions à l'analyse des médicaments. Conférence Société de Technique pharmaceutique, 1956, n° 8.
96. RESPLANDY (A.). — Contribution à l'analyse chromatographique des alcaloïdes. *Mémoires Institut scientifique Madagascar*, 1961, **10**, fascicule 1, série B.
97. SABON (F.) et MONNET (R.). — Chromatographie sur papier de la morpholyl-éthyl-morphine (Pholcodine). *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1955, **94**, p. 41-44.
98. SALVESEN (B.) et PAULSEN (A.). — The separation and identification of some analgesic compounds related to morphine by paper partition chromatography. *Medd. fra Norsk farm. Selsk.* 1953, n° 4.
99. SCHMALL (M.), WOLLISH (E.) et SHAFER (E.G.). — Chromatography of organic Bases on multibuffered paper. *Anal. Chemistry*, 1956, **28**, p. 1373-1376.
100. SCHOLZ (E.) et HAGEDORN (P.). — Untersuchung von Arzneimittelgemischen mittels Papierelektrophorese. *Dtsch. Apoth. Z.*, 1953, **93**, p. 81-82.

101. SCHULTZ (O.E.) et STRAUSS (D.). — Der Papierchromatographische Nachweis der Alkaloïde. *Arzneim. Forschung.*, 1955, **5**, p. 342-348.
 102. SELMI (F.). — *Mem. della Accad. di Bologna*, 1874. **6** p. 3.
 103. STAMBOULI (A.). — Recherches sur deux Rutacées africaines du genre *Teclea*. *Thèse Doct. Univ. Pharm.*, Paris, 1959.
 104. STOLL (A.) et RUEGGER (A.). — Essai de dosage quantitatif des glucosides digitaliques par la chromatographie sur papier. Hommage au Doyen R. FABRE, SEDES, Paris 1956.
 105. TABAU (R.L.) et VIGNE (J.P.). — Chromatographie et détection de certaines phénothiazines N. substituées. *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1958, n° 4, p. 458.
 106. THOMAS (G.). — Résolution d'associations médicamenteuses par résines échangeuses d'ions. *Ann. pharm. fr.*, 1954, **12**, p. 312-318.
 107. THOMAS (G.) et ROLAND (P.). — Chromatographie sur papier. Essai d'orientation pour l'identification des alcaloïdes en mélanges. *Ann. pharm. fr.*, 1954, **12**, p. 318-320.
 108. THOMAS (G.) et ROLAND (P.). — Séparation de composés organiques sur résines échangeuses d'ions par élution sélective en cycle fermé. *Pharmaceutisch Weekblad*, 1955, **90**, p. 129-138.
 109. TRABERT (R.). — Eine neue Methode zur Bestimmung von Einzelalkaloïden in Alkaloïdgemischen. *Naturwiss.*, 1956, **43**, p. 351.
 110. VALDI (D.). — Eine neue systematische Analyse von Alkaloiden mit Hilfe der Papierchromatographie. *Arch. Pharm.*, 1959, **292**, p. 206-220.
 111. VIALA (A.) et MONNET (R.). — Identification de quelques médicaments tranquillisants par chromatographie sur papier. *Trav. Soc. Pharm. Montpellier*. 1958, **18**, p. 79-82.
 112. VIEJO (J.P.). — Identification des drogues et contrôle des médicaments d'origine végétale par chromatographie sur papier. *Thèse Doct. Univ. Pharm.*, Paris, 1956.
 113. WILLIAMS (R.J.) et KIRBY (H.). — Paper chromatography using capillary Ascent. *Science*, 1948, **107**, p. 481-482.
 114. WUNDERLY (Ch.). — Electrophorèse sur papier. Edit. Vigot, Paris, 1956.
-

Vu, le Doyen

G. VALETTE

Vu, le Président

R. PARIS

*Vu et permis d'imprimer
le Recteur de l'Académie de Paris*

J. ROCHE

